

# LOCALISATION DE L'ARBUTOSIDE

(ARBUTINE)

DANS

LA GESSE NOIRE

*Orobus Niger* L. = *Lathyrus Niger* Bernh.

(*Papillonacée*)

Applications de la Microsublimation

---

## THÈSE

*Présentée et soutenue publiquement le 16 Mai 1935*

POUR L'OBTENTION DU TITRE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

(MENTION PHARMACIE)

PAR

**JEAN BREVIÈRE**

*Pharmacien*

Ancien préparateur à la Faculté

Né le 21 Décembre 1910, à LONGWY-BAS (M.-et-M.)

|      |   |                        |   |                   |
|------|---|------------------------|---|-------------------|
| JURY | { | MM. GILLOT             | { | <i>Président.</i> |
|      |   | MEUNIER.               |   | <i>Juges.</i>     |
|      |   | D <sup>r</sup> VERNIER |   |                   |

---

NANCY

IMPRIMERIE LORRAINE RIGOT & C<sup>ie</sup>

1935







# LOCALISATION DE L'ARBUTOSIDE (ARBUTINE)

DANS

LA GESSE NOIRE  
*Orobus Niger* L. = *Lathyrus Niger* Bernh.  
(*Papilionacée*)

Applications de la Microsublimation

## THÈSE

*Présentée et soutenue publiquement le 16 Mai 1935*

POUR L'OBTENTION DU TITRE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY  
(MENTION PHARMACIE)

PAR

**JEAN BREVIÈRE**

*Pharmacien*

Ancien préparateur à la Faculté

Né le 21 Décembre 1910, à LONGWY-BAS (M.-et-M.)

|      |   |                                  |   |            |
|------|---|----------------------------------|---|------------|
| JURY | { | MM. GILLOT . . . . .             | { | Président. |
|      |   | MEUNIER . . . . .                |   | Juges.     |
|      |   | D <sup>r</sup> VERNIER . . . . . |   |            |



NANCY

IMPRIMERIE LORRAINE RIGOT & C<sup>ie</sup>

1935

## PERSONNEL ENSEIGNANT

### Doyen honoraire :

M. BRUNTZ, O \*,  I O, O  \*, \*, Recteur de l'Université de Nancy.

### Professeurs honoraires :

MM. GRÉLOT, \*, I O, .

BRUNTZ, O \*,  I O, O  \*, \*.

### Doyen :

N...

### Assesseur :

M. GILLOT, I O, .

MM.

### Professeurs :

|                                                                                                                                                                                      |                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| DOURIS, I O,  *                                                                                     | Toxicologie.         |
| PASTUREAU, O *, I O, *                                                                                                                                                               | Pharmacie chimique.  |
| SEYOT, *,  I O,  * | Histoire naturelle.  |
| LASSEUR, *, I O,                                                                                    | Microbiologie.       |
| GILLOT, I O,                                                                                        | Matière médicale.    |
| PRÉVOST,                                                                                            | Chimie organique.    |
| N . . . . .                                                                                                                                                                          | Pharmacie galénique. |

### Agrégé libre :

M GIRARDET, \*, I O . . . . . Chimie et Toxicologie.

### Chargé de cours magistral :

M. MEUNIER. . . . . Pharmacie galénique.

MM.

### Chargés d'un cours complémentaire :

|                                                                                                              |                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| VERNIER, I O . . . . .                                                                                       | Zoologie.         |
| CORDEBARD,  I O . . . . . | Analyse chimique. |
| DONZELOT . . . . .                                                                                           | Physique.         |

MM.

### Chefs de travaux :

|                                                                                                              |                                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| VERNIER, I O . . . . .                                                                                       | Microbiologie et Parasitologie.   |
| CORDEBARD,  I O . . . . . | Chimie et Analyse chimique.       |
| STEIMETZ . . . . .                                                                                           | Micrographie.                     |
| DONZELOT (chargé de travaux) . . . . .                                                                       | Physique.                         |
| RICHARD (chargé de travaux) . . . . .                                                                        | Pharmacie.                        |
| COLLET (chargé de travaux) . . . . .                                                                         | Chimie biologique et Toxicologie. |

### Secrétariat :

M. E. TRIBOLET, I O . . . . . Secrétaire.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.



A MES GRANDS-PARENTS

*Témoignage de profonde affection.*

A MA MÈRE, A MON PÈRE

*Témoignage de mon filial respect.*

A MES FRÈRES ET SŒUR

*En hommage très affectueux.*

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE  
M. LE PROFESSEUR P. GILLOT  
Professeur de Matière médicale

*Hommage respectueux et reconnaissant.*

A MES JUGES  
M. A. MEUNIER  
Chargé du cours magistral de Pharmacie galénique

M. LE DOCTEUR P. VERNIER  
Chargé du cours de Zoologie

*Hommage de profonde gratitude.*

A TOUS MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

MEIS ET AMICIS

## AVANT-PROPOS

---

Le sujet de cette thèse nous fut suggéré par M. le professeur A. Meunier, dont nous étions le préparateur. Elle constitue en quelque sorte un prolongement de ses travaux sur les Orobes.

Alors que M. Meunier avait envisagé surtout le côté phytochimique du sujet, il a bien voulu nous engager à étudier plus particulièrement la localisation des principes hétérosidiques.

Nos recherches ont porté principalement sur le *Lathyrus niger* Bernh. Après avoir décrit l'habitat de la plante et sa morphologie externe, nous avons synthétisé les différents travaux effectués jusqu'ici sur l'arbutoside. Cet hétéroside, en effet, fut découvert dans *Lathyrus niger* Bernh. par M. A. Meunier; c'est la première fois que l'on décelait la présence de ce corps chez les Légumineuses.

Nous avons étudié les diverses réactions données par l'arbutoside en cherchant autant que possible à réaliser in vivo ce que nous obtenions in vitro. Puis, passant en revue les diverses parties de la plante, nous avons cherché une technique de localisation, et avons été assez heureux pour opérer cette localisation dans les différents tissus.

*Les dessins s'y rapportant, que l'on trouvera plus loin, ont été exécutés par notre camarade Henri Bertrand, moniteur de micrographie, que nous tenons à remercier ici bien cordialement de sa complaisance; ces dessins montrent très clairement l'anatomie de la plante et plus particulièrement les cellules à arbutoside.*

*Ayant rencontré de grosses difficultés dans l'étude des graines de Lathyrus niger Bernh., nous avons été amené à chercher une méthode d'identification plus pratique et d'une exécution plus sûre; nous nous sommes adressé à la microsublimation.*

*Nous avons alors étudié les différentes techniques proposées et nous avons choisi celle qui nous semblait à la fois la plus simple et la plus exacte.*

*Ayant obtenu les sublimats cristallisés cherchés, nous les avons caractérisés cristallographiquement et chimiquement; à ce propos, nous avons fait l'étude critique de la méthode et cherché à éliminer les diverses causes d'erreur susceptibles de fausser les résultats.*

\*  
\* \*

*Arrivé au terme de ces recherches, nous sommes heureux d'adresser à M. le professeur Paul Gillot nos remerciements pour avoir bien voulu accepter la présidence de cette thèse.*

*Notre gratitude va tout particulièrement à M. le professeur André Meunier qui non seulement à l'occasion de cette étude, mais aussi durant les deux années passées dans son laboratoire, n'a cessé de nous*

*prodiguer les marques de sa bienveillance en même temps que ses précieux conseils.*

*Nous remercions également M. le docteur Vernier pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger notre travail.*

*Que M. Emile Steimetz, chef de travaux de micrographie, trouve ici l'expression de notre reconnaissance pour l'hospitalité bienveillante qu'il nous a accordée dans son laboratoire et pour ses avis éclairés.*

*Enfin, nous avons à cœur d'adresser nos remerciements respectueux à tous nos Maîtres, Professeurs, Chefs de travaux qui, au cours de notre passage à la Faculté, nous ont témoigné tant d'intérêt et de sollicitude.*

---



## CHAPITRE PREMIER

---

### DESCRIPTION DU « LATHYRUS NIGER BERNH. » (*Orobus Niger* L.) MORPHOLOGIE EXTERNE. HABITAT

---

Nous avons récolté le *Lathyrus niger* Bernh. dans les bois de la commune de Lay-Saint-Christophe, village des environs de Nancy. Cette station serait la seule en Meurthe-et-Moselle.

Cette gesse assez décorative [26] (*fig. n° 1*, p. 4) mesurant de 30 à 80 centimètres de haut, à port bien particulier, se reconnaît par les caractères suivants :

Les tiges et les pétioles ne sont pas ailés; les feuilles sont sans vrille et se terminent par une courte pointe. Chaque foliole a des nervures secondaires partant de la nervure principale. Les stipules, au nombre de deux, sont étroites, aiguës, en forme d'alène.

C'est une plante vivace, à tiges creuses, anguleuses, non grimpantes. Elle se brise difficilement à la main, par suite d'une texture très fibreuse, que nous étudierons ultérieurement (p. 39).

Le passage de la structure tige à la structure racine s'établit dans les entre-nœuds inférieurs de la tige,

au-dessus des cotylédons. La tige souterraine est courte; elle porte des racines adventives épaisses.

La plante se perpétue par des bourgeons nés sur la tige souterraine. Les racines de la plante, longues de 12 à 15 centimètres, ont une coloration jaune-brun et possèdent une forme tout à fait typique.

Les fleurs apparaissent au mois de mai et sont caractéristiques des Papilionacées. Elles sont petites, réunies par 4 ou 8 en grappes terminant un rameau florifère plus long que la feuille à la base de laquelle il se trouve. Chaque fleur mesure de 10 à 13 millimètres de longueur. Nous y trouvons la carène, l'étendard et les deux ailes. Le calice est à dents très inégales, les inférieures ayant à peu près le tiers de la longueur du tube du calice. Le style est barbu près de son sommet. Les fleurs sont d'abord laque carminée, puis rouge violacé, puis bleu pâle. Quand elles sont fanées, elles deviennent noires (mélanogénèse).

Les étamines sont au nombre de dix; elles sont soudées à la base, en forme de tube; ce tube renferme le pistil, terminé à la base par l'ovaire, qui donnera plus tard la gousse renfermant les graines.

Les fruits sont des gousses de quatre à six centimètres de long. Ils sont allongés, à nervures en réseau aplaties sur les côtés. Ils mesurent 5 à 6 millimètres de largeur. Ils s'ouvrent par deux valves. Les graines, au nombre de dix habituellement, sont brunes, à téguments fibreux et cassants, et se décortiquent facilement; elles ont deux cotylédons bourrés de matières de réserve.



FIG. 1.

Tige feuillée et fleurie de « *Lathyrus niger* Bernh. »  
(d'après M. A. MEUNIER.)



Une première récolte fut faite au mois de novembre. Le cycle évolutif de la plante était achevé; cependant certains pieds à végétation plus tardive portaient encore les gousses caractéristiques des légumineuses renfermant quelques graines.

Malgré la saison avancée, nous avons arraché néanmoins quelques pieds encore en assez bon état.

Rentré au laboratoire, nous avons mis à part les racines et les tiges feuillées.

Plusieurs racines ont été conservées dans des bocalx paraffinés, avec un peu de toluène pour empêcher les mycoses.

Les tiges feuillées, coupées en tronçons, ont été l'objet de diverses préparations. Un premier lot fut plongé dans une atmosphère de toluène, comme la racine; un second fut immergé dans le mélange classique alcool-formol; un troisième fut abandonné à lui-même dans une enceinte saturée de vapeur d'eau; un quatrième dans une atmosphère de chloroforme; le tout dans des bocalx bouchés hermétiquement et paraffinés.

Nous avons répété les mêmes opérations séparément pour la tige seule et les feuilles détachées.

Au mois de mai, nous sommes allé à Lay-Saint-Christophe faire une seconde récolte. La plante fut, cette fois, déracinée avec précaution, en laissant un peu d'humus autour des racines, et transportée dans une caisse qui fut placée dans un lieu ombragé; nous avons assisté, par la suite, à la floraison, puis à la fructification.

Le *Lathyrus niger* Bernh. ne se rencontre que dans les lieux abrités; nous n'en avons pas trouvé dans les sous-bois, mais seulement sur le pourtour des clairières et aux flancs de certaines tranchées, et cela dans un quadrilatère qui ne dépasse pas 500 mètres sur 200.

M. Bonnier [4] donne pour le genre *Lathyrus* la classification suivante :

|                |   |                |   |
|----------------|---|----------------|---|
| Dicotylédonées | → | dialypétales   | → |
| Légumineuses   | → | papilionacées. |   |

|                                     |   |                      |   |           |   |          |   |                 |
|-------------------------------------|---|----------------------|---|-----------|---|----------|---|-----------------|
| Fruit<br>s'ouvrant à<br>deux valves | { | folioles disposées   | { | folioles  | { | feuilles | { | viciées         |
|                                     |   | par paire,<br>la     |   |           |   |          |   |                 |
|                                     |   | feuille se terminant |   | à         |   | à        |   | ou              |
|                                     |   | par un filet.        |   | stipelles |   | filet    |   | <i>Lathyrus</i> |

Dans nos régions, on connaît plus communément le *Lathyrus niger* Bernh. sous le nom d'*Orobus niger* L., ou Gesse noire.

## CHAPITRE II

---

### PRÉSENCE DE L'ARBUTOSIDE DANS « LATHYRUS NIGER BERNH. » (*Orob. Niger* L.)

---

#### Historique de l'Arbutine (1)

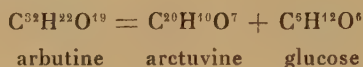
Le *Lathyrus niger* Bernh. n'est pas employé en thérapeutique. Peut-être pourrait-il l'être concurremment à *Uva ursi*, car il renferme un hétéroside, l'arbutoside arbutine (signalé récemment chez les Légumineuses) [26].

La découverte de cet hétéroside remonte à la première moitié du XIX<sup>e</sup> siècle. Déjà en 1847, Curtis et Hugues, étudiant l'*Uva ursi* (Ericinées) trouvèrent une substance [8] qui cristallisait en prismes transparents et incolores en forme d'aiguilles et qu'ils appelèrent ursine. Ce principe inconnu avait un pouvoir diurétique très énergique.

---

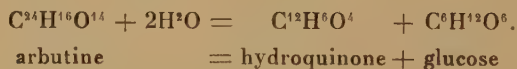
(1) La mise au point de cet historique nous a été grandement facilitée par une excellente bibliographie de l'arbutine, travail inédit de M<sup>lle</sup> FICHTENHOLZ. Ces notes, que M. A. MEUNIER a bien voulu nous confier, lui avaient été prêtées par M. le professeur HÉRISSEY. Que ce maître de la chimie végétale veuille bien agréer ici l'expression de nos remerciements très respectueux.

En 1852, Kawalier, continuant les travaux de Hugues sur le Raisin d'Ours, identifia l'ursine à un principe glucidique qu'il appela l'arbutine. En traitant l'arbutine par l'émulsine [18], Kawalier a observé le dédoublement de ce corps en glucose et en une autre substance cristallisable qu'il nomma l'arctuvine, dont il a représenté la composition par la formule  $C^{20}H^{10}O^7$ . Il expliquait ce dédoublement par l'équation suivante :



En 1858, M. A. Strecker [38], qui travaillait en Norvège sur l'*Uva ursi* (en vue de la préparation de l'encre), retira par la méthode Kawalier la substance identifiée sous le nom d'arbutine. Il traita le produit par l'acide sulfurique dilué en chauffant assez longtemps, puis agita la solution obtenue avec de l'éther et évapora cet extrait éthéré. Il obtint une substance identique à celle obtenue par Kawalier en faisant agir l'émulsine sur l'arbutine. Il analysa ce corps et l'identifia à l'hydroquinone. L'arctuvine n'était donc que de l'hydroquinone.

L'équation devint :



En 1861, continuant ses travaux, M. A. Strecker étudia l'action de l'acide nitrique sur l'arbutine [39] et obtint la dinitro-arbutine. Il décomposa aussi l'ar-

butine par le chlore et obtint un mélange des différentes quinones chlorées.

En 1864, MM. C. Zwenger et C. Himmelmann [47] dans les autres plantes de la famille des Ericinées et en particulier le Wintergrün (*Pyrola umbellata*), trouvèrent aussi de l'arbutine en quantité très considérable.

En 1870, M. A. Schiff [31] étudia l'arbutine et montra ses analogies avec la salicine.

En faisant agir le chlorure d'acétyle sur l'arbutine, il obtint une matière blanche cristallisant en groupes sphériques de tablettes et d'aiguilles, et qui était la pentacétylarbutine  $C^{22}H^{26}O^{12}$ .

En traitant de même le glucoside par le chlorure de benzoyle, il tomba sur la pentabenzarbutine  $C^{47}H^{36}O^{12}$ .

Par l'oxyde d'argent agissant sur deux molécules d'arbutine, il obtint un nouveau corps : la diarbutine  $C^{24}H^{30}O^{14}$ .

M. Julius Jungmann, en 1871, a constaté la présence abondante de l'arbutine dans *Chimaphila umbellata*.

En 1872, M. J. Oxley [30] put l'extraire de deux autres Ericacées : *Gaultheria procumbens* et *Epigœa repens*, mais en petites quantités. Il caractérisa le produit à l'aide du réactif de Jungmann à l'acide phosphomolybdique.

En 1873, M. H. Flint [12] décela l'arbutine dans *Arctostaphylos glauca*.

En 1875, G.-W. Kennedy [18a] l'identifia dans *Kalmia latifolia*.

En 1881, M. H. Schiff [32], reprenant les travaux de Hlasiwetz et Habermann, émit l'opinion que le corps étudié précédemment sous le nom d'arbutine était le mélange de deux corps : l'arbutine et un composé très voisin, la méthylarbutine. Il le démontra en séparant les deux glucides et en étudiant leurs propriétés respectives.

Michael [26b] avait fait la synthèse de la méthylarbutine par l'action de l'iodure de méthyle sur une solution d'arbutine dans la potasse méthylalcoolique.

M. H. Schiff compara ce produit synthétique avec celui qu'il avait isolé de l'*Uva ursi*. Il trouva des points de fusion beaucoup plus bas que celui du composant le plus fusible. Il en conclut qu'il avait affaire non pas à un produit pur, mais à un mélange arbutine-méthylarbutine.

Il étudia alors les propriétés physiques de l'arbutine brute. Il soumit l'hétéroside à la température de 100°; à cette température, le corps se déshydrate presque complètement. La déshydratation à 110°-120° est préférable et se fait facilement.

L'arbutine est un produit très hygroscopique; aussi la proportion d'eau est-elle assez difficile à définir. Les résultats trouvés varient entre 3,6 % (Arbutine de Strecker) et 2,99 % (Zwenger et Himmelmann).

M. Schiff, suivant les échantillons, trouva 3,10, 3,18, 3,50, 3,58, 3,68 et même 4,65 et 4,80 %.

En étudiant de même les divers résultats obtenus pour les différents points de fusion du corps et sa teneur en carbone, M. Schiff conclut qu'il existait simultanément : d'abord un produit cristallisé, corps chi-

mique bien défini appelé arbutine, puis un autre corps extrêmement voisin, appelé méthylarbutine, ces deux substances ayant des constantes physiques bien établies; et enfin des mélanges de ces deux produits, constituant des intermédiaires et qui seraient les substances analysées par Hlasiwetz et Habermann.

En 1881, E.-N. Smith [36] continua l'étude des Eriacées : *Chimaphila macula* Pursh., *Pyrola elliptica* Nuttall, *Pyrola chlorocantha* Schwartz et *P. rotundifolia* var. *Asarifolia*. Il y caractérisa l'arbutine en l'isolant par le procédé Julius Jungmann, et identifia le produit par la réaction bleue de son réactif phosphomolybdique.

En 1883, M. J. Habermann [13] identifia un troisième produit de dédoublement de l'arbutine : la méthylhydroquinone, et donna alors au glucoside la formule  $C^{25}H^{34}O^{14}$  contre  $C^{24}H^{16}O^{14}$ .

En 1884, MM. H. Schiff et G. Pellizzari [33] isolèrent la méthylarbutine de l'arbutine par un procédé à l'oxyde d'argent. En effet, l'arbutine en solution aqueuse légèrement chauffée se transforme, sous l'action de ce corps, en diarbutine.

La méthylarbutine est beaucoup moins facilement attaquée. On peut l'extraire alors par l'alcool absolu dans la liqueur filtrée.

Par ce procédé, MM. Schiff et Pellizzari séparèrent par l'eau la benzylarbutine qui se forme en même temps. Par ébullition de la benzylarbutine avec des acides minéraux étendus, ils obtinrent la mono- et la di-benzylhydroquinone.

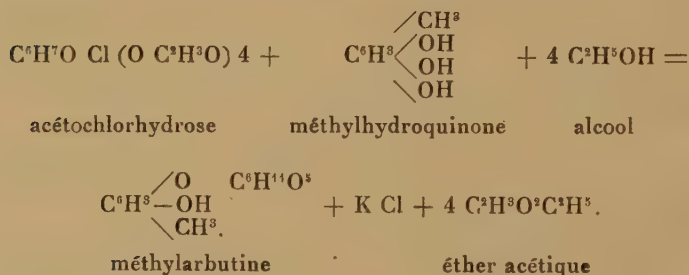
En 1885, M. G.-P. Kuehnel [19] étudiant le *Rhododendron maximum* Linné, en a extrait des cristaux aciculaires d'arbutine.

En 1885, M. E. Claassen [7] identifie définitivement le principe amer de la vaccinine, qu'il croyait avoir trouvé dans l'Airelle Myrtille, avec l'arbutine.

Il découvrit aussi dans la Canneberge d'Amérique, plante voisine de l'Airelle Myrtille, un principe voisin de l'arbutine, qu'il appela oxyiocine et qui, par ébullition avec les acides étendus, se transforme en glucose et en une autre substance phénolique (ce qui caractérise sa nature hétérosidique).

En 1893, MM. Schunck et Marchlewski [34] identifièrent le sucre provenant du dédoublement de l'arbutine avec le glucose *d*.

En 1900, M. Van Rijn [43] fit la synthèse de la méthylarbutine en faisant agir l'acétochlorhydrose sur le sel de potassium de la méthylhydroquinone :



En 1912, C. Mannich [23] étudie les composés d'addition formés par l'arbutine et la méthylarbutine avec l'hexaméthylènetétramine.

Il obtint l'arbutine pure, par synthèse, de la façon suivante :

Le sel monosodique de l'hydroquinol est condensé avec l'acétobromoglucose en tétracétylarbutine :

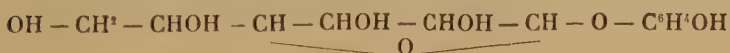


que l'acétylation transforme en pentacétylarbutine (F. = 144°-145°) identique au dérivé pentacétylé obtenu au moyen de l'arbutine naturelle; hydrolysé par la baryte à 5 %, ce dérivé pentacétylé fournit l'arbutine pure  $\text{C}^{12}\text{H}^{16}\text{O}^7, \text{H}^2\text{O}$ .

En 1922, Willstaetter [45] étudia l'action de l'émulsine sur l'arbutine et obtint son dédoublement en glucose et hydroquinone.

En 1923, Kariyone et V. Kimura [17] étudièrent les feuilles de pêcher japonais (*Pinus sinensis* Lindl.) et y trouvèrent entre 0,30 et 0,57 % d'arbutine.

En 1924, M. A. Macbeth et J. Mackay [22] étudiant la constitution du glucose de l'arbutine, en concluent que le produit est formé de la combinaison du glucose (oxyde de butylène) avec l'hydroquinol, la formule du glucose étant :



En 1925, M. Josephson [16] effectue la dégradation enzymatique de l'arbutine à l'aide de l'enzyme de la poudre d'amandes amères.

En 1930, M. A. Meunier [25] étudiant les variations de coloration des plantes au cours de leur dessicca-

tion, trouva que le chromogène de l'*Orob. niger* était de nature hétérosidique. Il s'agissait de l'arbutoside (1), dont le produit d'hydrolyse, l'hydroquinol, s'oxyde une fois libéré et provoque le noircissement si caractéristique de la Gesse noire.

Enfin tout dernièrement, au mois d'avril 1934, R. Gager et L. Zechner [12a] ont dosé l'arbutoside dans les feuilles de *Vaccinium Vitis Idaea* (4,5 à 7 % dans la feuille). Ils ont trouvé que cette quantité variait au cours de la croissance et atteignait un minimum au mois de juin (3 %).

---

(1) Les termes *arbutoside*, *hétéroside* sont conformes aux décisions adoptées, sur l'initiative de M. le professeur Gabriel BERTRAND, par la Commission de Réforme de la Nomenclature de Chimie Biologique (M. BRIDEL [5 a], BERTRAND [2 a], DE CUGNAC [9], A. MEUNIER [26 a]).

---

### CHAPITRE III

---

## PROPRIÉTÉS THÉRAPEUTIQUES DE L'ARBUTOSIDE

---

L'arbutoside est un hétéroside qui se dédouble sous l'action de la glucosidase  $\beta$  de l'émulsine, en donnant du glucose et de l'hydroquinol. L'action thérapeutique de l'arbutoside paraît due à un dédoublement analogue dans l'organisme; on a en effet nettement démontré, après absorption de ce corps, la présence de l'hydroquinol dans l'urine qui, à l'air, se colore rapidement en vert et devient brune dès que sa réaction acide est devenue *alcaline*. On sait aussi que d'autres ferments peuvent, comme l'émulsine, provoquer ce dédoublement.

Les propriétés antiseptiques et anti fermentescibles de l'hydroquinol sont connues, et on ne saurait s'étonner qu'après l'absorption de l'arbutoside, une urine brune résiste à la putréfaction.

Comment agit et se comporte l'hétéroside dans l'organisme? C'est ce que nous allons examiner.

Comportement de l'arbutoside  
dans l'organisme vivant.

R. Bass [1], en 1912, étudia le dédoublement des glucosides dans l'organisme animal et dans certains organes détachés, en se basant sur l'hypothèse de l'existence de rapports génétiques entre les glucosides et les acides glycuroniques combinés [11a]. Pour cela, il observa la façon dont se comportaient l'homme d'une part, l'animal (lapin) d'autre part, après absorption d'arbutoside.

De plus, il expérimenta *in vitro* le comportement de l'arbutoside après digestion pendant 1 à 3 jours au sein de différents organes animaux et humains (foie, pancréas, reins, sérum, muqueuse d'intestin grêle, glande salivaire, rate, etc.).

Les essais *in vivo* ont montré dans l'urine, après ingestion par voie buccale de fortes doses d'arbutoside (1,5 à 2 gr. par kilogramme de lapin), la présence d'hydroquinol et l'absence d'hétéroside. Par voie sous-cutanée, 0,4 gr. du glucide par kilogr. donnent déjà, chez le lapin, de l'arbutoside en nature dans l'urine. Chez le chien, la tolérance en cas d'injection sous-cutanée est d'environ la moitié de ce chiffre.

Si les doses de glucide ingéré par la voie buccale sont plus faibles que celles indiquées plus haut, l'hydroquinol se retrouve alors dans l'urine combiné à l'acide sulfurique et à l'acide glycuronique. A l'emploi d'arbutoside cristallisé, on peut substituer la décoction de feuilles de Raisin d'Ours [44], feuilles qui renferment environ 4 % d'arbutoside. L'action antiseptique

exercée par l'hydroquinol sur l'urine est la même dans les deux procédés, mais tandis que l'hydroquinol directement administré peut amener des phénomènes secondaires assez inquiétants (tels que des éblouissements, bourdonnements d'oreille, oppression, pouls lent et faible, frissons, cyanose), l'arbutoside employé à l'intérieur n'a pas ces inconvénients. Il se dédouble, en effet, en glucose et hydroquinol; toutefois le pouvoir toxique du phénol est annihilé par suite de la neutralisation du produit sous forme de sulfocomposé. Cette combinaison du phénol se fait plus vite que la mise en liberté *in vivo* de l'hydroquinol par dédoublement de l'hétéroside; ainsi ne pouvons-nous avoir de concentration toxique d'hydroquinol dans le sang.

L'ingestion comparée d'arbutoside et d'une quantité correspondante d'hydroquinol montre dans l'urine la même proportion de glycuronate d'hydroquinol. Ceci infirme la théorie d'après laquelle les hétérosides seraient les premiers termes de combinaison des acides glycuroniques, et semble plutôt montrer que l'hydroquinol se combine directement avec l'acide glycuronique sans que les processus de formation et d'oxydation dans l'organisme soient subordonnés l'un à l'autre et simultanés.

Dédoublement de l'arbutoside  
dans divers organes détachés et broyés (*in vitro*).

R. Bass [1] a cherché une explication du dédoublement de l'hétéroside dans la détermination quantitative du pouvoir de dédoublement fermentatif d'organes isolés et broyés.

Pour cela, il mit en contact — à une température de 38° — une solution de l'hétéroside sous toluol, avec une poudre faite de différents organes desséchés à basse température. Au bout d'un certain temps, il détermina (par une méthode que nous décrirons plus loin) la quantité d'hydroquinol libérée. Il put constater ainsi que le foie et les reins du lapin, du chat, du porc (mais pas les organes correspondants du chien) ont le pouvoir de dédoubler jusqu'à 50 % de l'arbutoside; ce dédoublement est spécifiquement organique.

Les acides glycuroniques combinés à l'état de glycuronate de menthol, glycuronate d'hydroquinol, sont attaqués aussi, quoique plus faiblement, par le foie et les reins des animaux les plus divers. Ces acides furent extraits de l'urine de lapins ayant reçu de l'hydroquinol.

Le pouvoir de décomposition dont il vient d'être question est indépendant du dédoublement simultané de l'hétéroside, ainsi que de l'espèce animale soumise à l'expérience; il se manifeste d'une manière indépendante et spécifique.

Il a été découvert également dans les organes des ferments indépendants qui agissent sur les acides glycuroniques combinés; aussi est-il vraisemblable qu'il se produit dans l'organisme une décomposition des acides glycuroniques combinés, symétrique de leur formation.

#### Toxicologie de l'arbutoside.

M. Ivanoff a démontré l'action inhibitrice de l'arbutoside sur la respiration des plantes [15]. L'hétéroside n'est pas toxique chez l'homme; il l'est chez certains animaux.

Des chats ayant absorbé un gramme d'arbutoside sont morts en dix heures, alors que des lapins ont reçu la même dose sans effet.

Par contre, l'absorption de 0,2 gr. d'hydroquinol a déterminé au bout d'une heure des convulsions, puis la mort de plusieurs chats. L'ingestion de 0,1 gr. les a tués en huit heures, alors que des lapins absorbaient impunément 0,05 à 0,1 gr. du phénol.

En analysant les viscères des animaux morts, on a décelé la présence d'hydroquinol dans le sang, l'urine, le foie, les reins, le cerveau, etc., mais on n'en a trouvé ni dans les muscles, ni dans les matières fécales.

L'excrétion de l'hydroquinol, comme celle de l'arbutoside (ingéré par voie buccale), est terminée au bout de 15 heures. Elle se fait dans les deux cas sous forme d'hydroquinol; cependant, dans le cas d'ingestion massive d'arbutoside par voie sous-cutanée, on peut retrouver dans l'urine de l'hétéroside inaltéré.

#### Détermination de l'arbutoside dans une urine.

[19 a] LAURENTZ.

On mélange l'urine avec de l'acide sulfureux, puis on agite avec de l'éther acétique (le chloroforme et l'éther donnent des résultats plus incertains et l'éther de pétrole, lui, ne dissout pas l'arbutoside). On peut déceler alors, dans le produit d'évaporation du solvant, l'arbutoside cherché, par ses réactions caractéristiques décrites au cours de ce travail (*voir page 33*).

### Dosage de l'arbutoside dans l'urine.

L'urine neutralisée est précipitée complètement par l'acétate de plomb basique (éviter un excès). On ajoute au filtrat un peu d'ammoniaque, puis de nouveau de l'acétate de plomb, jusqu'à précipitation complète. Le précipité est lavé à l'eau ammoniacale et décomposé par l'hydrogène sulfuré. Le filtrat de sulfure de plomb est porté à l'ébullition pendant une heure avec de l'acide sulfurique à 15 %, neutralisé par du carbonate de baryum, évaporé jusqu'à réaction faiblement acide et traité enfin dans le tube à fermentation étaloné. On réussit ainsi à déceler et à doser dans l'urine 0 gr. 35 d'arbutoside par litre. L'acide glycuronique existant en même temps augmente les résultats. Si l'urine contient du glucose venant de la décomposition de l'acide glycuronique, traiter d'abord la liqueur avec de la levure.

### Caractérisation de l'hydroquinol dans l'urine.

L'urine, acidifiée par l'acide sulfurique, est ensuite traitée par l'éther acétique. On évapore. Sur les résidus d'évaporation on fait les réactions d'identification du produit.

L'urine analysée avait été émise 12 heures après l'absorption de 0,1 gr. d'hydroquinol. Le réactif de Froehde a donné faiblement sa coloration violette. En augmentant la dose à 0,15 gr., l'on obtint la réaction du perchlorure de fer, réaction verte, et celle du nitrate

d'argent, qui donna un précipité noir avec odeur prononcée et caractéristique de quinone ressemblant quelque peu à celle de l'iode. On fit ensuite bouillir une partie de l'urine analysée avec 1 % d'acide sulfurique; agité de nouveau avec l'éther acétique, puis évaporé, le résidu ne donna pas de cristaux avec l'eau chlorée, mais une coloration verte très nette après addition d'ammoniaque.

**Détermination de l'hydroquinol  
dans les extraits d'organes.**

Elle est basée sur la réduction de la solution d'argent ammoniacale à froid. On traite 10 à 20 cc de la solution à analyser, dans des becherglass hauts et étroits, avec 3 cc d'une solution de nitrate d'argent au demi additionnée de 4 cc d'ammoniaque à 25 %. Au bout de 10 minutes se produit une précipitation qui entraîne l'argent colloïdal; on aspire dans un creuset de Gooch et on lave avec un mélange fait d'une partie d'ammoniaque et quatre parties d'alcool. Le contenu du creuset est chauffé dans le becherglass initial avec de l'acide nitrique concentré; on y verse environ 1 cc d'alcool; l'argent est dissous. Lorsqu'on opère sur de l'urine, où l'argent ammoniacal détermine à lui seul une précipitation, on lave le contenu du creuset de Gooch non pas avec le mélange alcool-ammoniaque, mais avec une solution de 25 gr. d'hyposulfite de soude + 40 gr. alcool + eau jusqu'à décomposition, ce qui redissout le précipité.

**Thérapeutique. — Indications. — Posologie.**  
**Résultats obtenus avec l'arbutoside.**

Le médicament est employé en thérapeutique depuis longtemps. Il constitue, en effet, le principe actif de la Busserolle ou Raisin d'Ours (*Uva ursi*). On emploie l'infusion de feuilles de Raisin d'Ours comme astringent et diurétique (15 à 30 parties de feuilles pour 1.000 d'eau). L'extrait aqueux d'*Uva ursi* se donne aussi en potion, à la dose de 0,50 à 2 grammes par jour, et l'extrait fluide à raison de 2 à 6 grammes par jour.

La décoction de feuille de Gesse noire pourrait s'employer concurremment à celle que l'on prépare avec les feuilles de Raisin d'Ours. Le *Lathyrus niger* constitue une source d'arbutoside assez considérable.

L'action thérapeutique de l'arbutoside a été déduite des propriétés pharmacologiques des feuilles de Busserolle. Cette plante, fort estimée par les médecins de Montpellier, tels : Dehaen, Planchon, Rabuteau, voyait cependant ses propriétés contestées par des praticiens célèbres, tels Werlhof et Sauvage.

Les preuves de l'efficacité de la plante devaient jaillir de l'étude de l'arbutoside. En 1862, G.-D. Schroff (1) ne constatait pas d'action diurétique avec 50 centigrammes d'arbutine, quoique E.-C. Hughes [8] eût trouvé pour son ursine des propriétés diurétiques.

En 1885, Leubuscher [21] avait traité par l'arbutoside trois cas de catarrhe vésical. L'un était une cystite légère d'origine gonococcique; les deux autres

---

(1) D'après E.-C. HUGHES [8].

étaient deux cas graves de cystites purulentes chez deux malades souffrant de pyélites.

Dans la première observation, le catarrhe vésical disparut assez vite par l'usage de l'arbutoside, mais dans les deux autres cas, le médicament se montra totalement inactif. On observa même, pendant l'usage, que la quantité de pus augmentait et que l'urine renfermait de très nombreux filaments diphtériformes.

Cependant, un peu plus tard, Rossbach (1) obtint en quelques heures la guérison d'une hématurie rénale chez un néphrétique (cette hématurie avait résisté à tout). Rossbach prescrivit alors l'arbutoside pendant plusieurs semaines, à la dose de 5 gr. par jour.

L'arbutoside donne donc de bons résultats en tant qu'antiseptique et tonique spécifique dans des maladies accompagnées d'écoulement purulent des voies et organes urinaires, telles que les pyélonéphrites, les pyélites calculeuses ou infectieuses, ainsi que dans les cystites de toute nature, à entérocoques, colibacilles, gonocoques, dans les urétrites, adénomes de la prostate, rétrécissements, prostatites, vésiculites, littrites, etc. Dans les cystites et gonorrhées légères, la dose est de 5 gr. par jour.

La spécialité pharmaceutique s'est emparée, il y a quelques années, du produit. Le mictoseptol utilise une combinaison cristallisée d'urotropine et d'arbutoside.

---

(1) D'après LEUBUSCHER [21].



## CHAPITRE IV

---

### EXTRACTION DE L'ARBUTOSIDE DE « LATHYRUS NIGER BERNH. »

---

M. André Meunier a extrait l'arbutoside de *Lathyrus niger* Bernh. de la manière suivante ([26], p. 191 et 192) :

« Les plantes fraîches et fleuries ont été stabilisées à l'alcool à 80° à l'ébullition, de façon à détruire tous les ferments.

« Après refroidissement, ces plantes ont été pressées, broyées et épuisées, d'abord dans le même alcool, puis, après décantation, par de l'alcool neuf.

« On a réuni les solutions alcooliques et, après filtration, on a récupéré le solvant par distillation à l'alambic.

« Le résidu aqueux, filtré rapidement pour éliminer la majeure partie de la chlorophylle, a été déféqué complètement par l'extrait de Saturne. Les solutions réunies ont été traitées ensuite par l'acide sulfhydrique pour éliminer l'excès de plomb.

« Après filtration, on les a distillées en sirop épais, sous pression réduite, sans dépasser 50° pour éviter

toute hydrolyse par l'acide acétique. Cet acide a été éliminé lui-même par de nombreux lavages de l'extrait au moyen d'éther.

« C'est cet extrait qui a été repris par l'éther acétique hydraté bouillant, à dix reprises différentes, en employant dans chaque épuisement 500 cc de solvant. Malheureusement, l'hétéroside y était fort peu soluble (1 partie pour 1.000 parties d'éther acétique anhydre environ) et n'avait aucune tendance à cristalliser. Ce n'est que par distillation de l'éther acétique que nous avons obtenu le produit sous forme d'un résidu blanc, assez abondant, mal cristallisé.

« L'extrait ainsi épuisé fut repris par de l'eau distillée, de manière à obtenir une solution sirupeuse qui a été traitée par de l'éther acétique, dans l'appareil à perforation pour solvants légers de Fayolle et Lormand. Il s'est déposé assez rapidement, au sein de l'éther acétique, des croûtes blanchâtres cristallines, de nature hétérosidique, que nous avons étudiées ultérieurement.

« Le glucide, extrait de l'ébullition, a été purifié d'abord par trois cristallisations successives dans l'éther acétique bouillant. Finalement, après lavage du produit cristallisé par l'éther anhydre, où il est presque insoluble, on l'a fait recristalliser dans de l'éther acétique additionné de 2 p. 100 d'eau (300 cc pour 5 gr. de produit). On a obtenu ainsi environ 15 gr. d'hétéroside pur. »

---

## CHAPITRE V

---

### IDENTIFICATION DIRECTE DE L'ARBUTOSIDE DANS « LATHYRUS NIGER » A PARTIR DE LA DROGUE

---

Nous avons essayé d'identifier directement l'arbutoside à partir de la drogue dans le *Lathyrus niger* Bernh. en appliquant pour cela la réaction de Jungmann.

Une infusion de plante fraîche (tiges et feuilles) a été étendue d'eau distillée pour paraître incolore. Alcalinisée avec de l'ammoniaque, une coloration orangée est apparue.

Nous avons dilué à nouveau, puis ajouté l'acide phosphomolybdique; nous avons obtenu alors la coloration bleue caractéristique de l'arbutoside. (La critique de cette réaction sera faite plus loin.)

La même expérience effectuée sur la partie souterraine de la plante n'a donné aucun résultat.

**Dosage de l'arbutoside dans les plantes :**

*Uva ursi* [12 b].

*Lathyrus niger* Bernh., etc.

Grimme, récemment, nous donne pour le dosage de l'arbutoside dans les plantes le mode opératoire suivant : faire bouillir dans un becher de 200 cc 8 gr. de feuilles de Raisin d'Ours bien pulvérisé, pendant dix minutes, et répéter cette opération trois fois avec, chaque fois, 50 cc d'eau fraîche. Filtrer sur coton, dans un ballon gradué de 180 cc. Finalement, refroidir le ballon et compléter à 180 cc. Ajouter 20 cc d'acétate de plomb et agiter. Laisser déposer quelque temps au bain-marie, puis essorer à chaud.

Dissoudre dans 125 cc de la solution 1,25 gr. de bicarbonate de sodium et laisser déposer pendant dix minutes. Filtrer ensuite la solution surnageante, qui ne doit plus contenir de plomb.

Agiter 100 cc du filtrat avec quatre fois 25 cc d'éther pour enlever l'hydroquinol libre, chasser l'éther et compléter la solution aqueuse à 110 cc.

On fait les trois essais parallèles suivants :

Mettre dans un erlenmeyer de 100 cc 22 cc du filtrat équivalent à 0,4 gr. d'extrait ou 0,8 gr. de feuilles, ajouter 22 cc d'acide sulfurique au cinquième et faire bouillir à reflux sur une petite flamme pendant une heure. La saponification hétérosidique terminée, laisser refroidir, ajouter 1 gr. de zinc en poudre et agiter cinq minutes. La solution doit devenir incolore; sinon, ajouter 0,5 gr. de poudre de zinc et agiter encore cinq minutes.

Verser ensuite le liquide sur un filtre mouillé, au-dessus d'un becher de 300 cc gradué à 150 cc; bien laver le zinc non dissous et neutraliser le filtrat avec du bicarbonate de sodium en poudre. Après cessation du dégagement gazeux, diluer à 150 cc, ajouter 1 gr. de bicarbonate et titrer par une solution décimale d'iode. Etablir la moyenne des trois titrations obtenues.

---



## CHAPITRE VI

---

### RÉACTIONS DE L'ARBUTOSIDE « IN VITRO ».

---

Nous avons alors cherché à localiser d'une façon précise l'arbutoside dans les divers tissus des différentes parties de la plante. Nous avons passé en revue, pour cela, les réactions colorées que donne l'arbutoside *in vitro*.

1° Le perchlorure de fer officinal au dixième donne avec l'arbutoside une coloration bleue.

2° Une solution de l'hétéroside alcalinisée par l'ammoniaque ou un carbonate alcalin, puis additionnée d'acide phosphomolybdique, donne une coloration bleue : c'est la réaction de Jungmann. Pour préparer le réactif, on fait dissoudre un gramme de phosphomolybdate de sodium dans 10 cc d'acide chlorhydrique additionnés de 20 cc d'eau.

3° Réaction de Strecker-Schiff.

L'arbutoside à caractériser est trituré au moyen d'un agitateur en verre avec une ou deux gouttes d'acide nitrique concentré. On lave la masse jaune obtenue (dinitrohydroquinol) avec environ 4 cc d'alcool dans un

tube à essai; on ajoute un demi-centimètre cube d'acide sulfurique et on chauffe après avoir adapté un réfrigérant à reflux. Après un quart d'heure d'ébullition, quelques gouttes de la solution additionnées d'eau et d'un peu de lessive de soude donnent la coloration violette caractéristique, due à l'action de l'alcali sur le dinitrohydroquinol. Cette coloration est très intense une demi-heure après.

4° Le mélange d'acide sulfurique concentré et de solution diluée de perchlorure de fer (une goutte de chaque) chauffée fortement, colore 0,02 gr. d'arbutoside en brun-marron (l'hydroquinol est coloré en vert olive).

5° Le nitrate d'argent avec un milligramme d'arbutoside donne un précipité noir sans odeur.

6° Les vapeurs de brome suivies d'une addition d'ammoniaque provoquent l'apparition d'une teinte verte, puis brune.

7° L'eau de chlore dissout l'arbutoside sans coloration, puis, sous l'action de l'ammoniaque en présence de plus d'un milligramme d'hétéroside, cette eau devient verte et finalement brunâtre.

(La quinine, qui présente une réaction analogue, ne se dissout pas dans l'éther, le liquide ayant été acidifié.)

8° Chauffés avec de l'eau de chlore et additionnés d'un peu d'ammoniaque et de ferricyanure de potassium, plus de 2 centigr. d'arbutoside donnent une coloration brune ou brun-violet.

9° Plus d'un milligramme d'arbutoside trituré avec du sucre et humecté d'acide sulfurique devient peu à peu rougeâtre et finalement vert (coloration due au furfurol).

10° L'arbutoside donne une réaction très caractéristique avec la nitrosodiméthylaniline [48].

Si l'on additionne une solution (1) récente de paranitrosodiméthylaniline d'un cristal d'arbutoside, il se produit peu à peu des amas en forme de glandes et des étoiles de couleur rouge-orange foncé, composées de bâtonnets; à l'évaporation, on obtient sur le pourtour du verre de montre des arborescences de même couleur.

11° Nous avons également caractérisé l'arbutoside par microsublimation, ainsi qu'il sera exposé ci-après (v. p. 60).

---

(1) 0,2 gr. de chlorhydrate de paranitrosodiméthylaniline; 0,15 gr. d'acétate de soude, 10 gr. d'eau; filtrer.

---



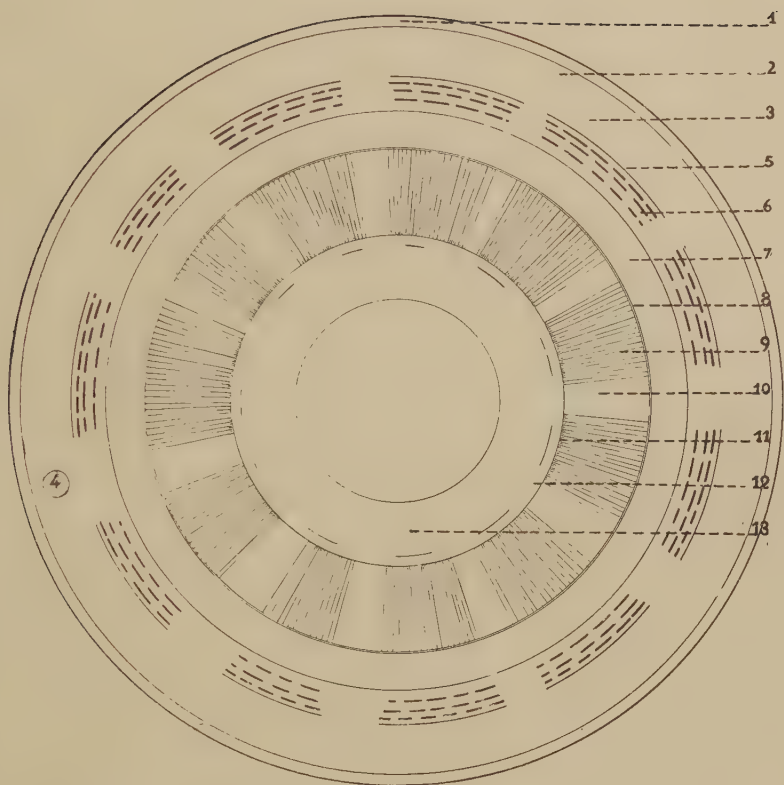


FIG. 2.

Schéma de coupe de tige de « *Lathyrus niger* Bernh. »

- 1<sup>o</sup> Epiderme ; 2<sup>o</sup> Collenchyme ; 3<sup>o</sup> Parenchyme cortical ; 4<sup>o</sup> Trace foliaire ; 5<sup>o</sup> Endoderme ; 6<sup>o</sup> Fibres péricycliques ; 7<sup>o</sup> Liber ; 8<sup>o</sup> Cambium ; 9<sup>o</sup> Bois secondaire ; 10<sup>o</sup> Rayons médullaires ; 11<sup>o</sup> Bois primaire ; 12<sup>o</sup> Parenchyme interligneux ; 13<sup>o</sup> Moelle en partie résorbée.



## CHAPITRE VII

---

### LOCALISATION DE L'ARBUTOSIDE DANS LE « LATHYRUS NIGER BERNH. »

---

Connaissant les réactions de l'arbutoside *in vitro*, nous avons cherché à caractériser ce principe dans le *Lathyrus niger* Bernh., Légumineuse Papilionacée. Pour cela, nous avons recherché une technique de coloration.

Méthode de localisation de l'arbutoside  
dans « *Arctostaphylos Uva-Ursi* ». CHEMINEAU [6]

Voici la technique indiquée par M. Chemineau :

« Prendre de l'acide nitrique au quart ou au tiers. Plonger les coupes dans ce réactif une minute et demie, trois minutes ou quatre minutes, suivant la concentration de l'acide. Les coupes prennent une teinte rougeâtre. On les retire et on les monte dans le glycérol. Les cellules à arbutoside prennent une belle coloration jaune-orange. »

**Expérimentation**  
**sur la tige de « Lathyrus niger Bernh. »**

Nous avons procédé d'abord à la préparation des coupes; nous en avons étudié l'anatomie et enfin nous avons cherché à y localiser l'arbutoside.

**Préparation des coupes.**

Ayant prélevé une portion de tige sur un des pieds que nous avions transplantés, nous y avons fait des coupes transversales assez fines.

Ces coupes furent traitées d'abord par l'eau de javel pendant quelques minutes, pour enlever le contenu cellulaire, puis par la fuchsine ammoniacale.

Nous avons monté la coupe en glycérol et observé la structure suivante (*fig. n° 2, p. 36*).

A l'extérieur, un épiderme à cuticule mince, un parenchyme cortical réduit à quatre ou cinq assises de cellules polygonales, avec du collenchyme aux angles de la tige. L'on y voit plusieurs traces foliaires : toujours deux, quelquefois quatre, selon la hauteur de la coupe faite dans la tige feuillée.

Puis vient un endoderme très net constitué par des cellules régulières formant un anneau continu autour du cylindre central; cet endoderme se retrouve autour de chacune des traces foliaires précitées, qui ont d'ailleurs la même morphologie que la tige proprement dite.

En allant vers le centre, nous rencontrons de nombreux faisceaux libéroligneux séparés par des rayons

médullaires larges et lignifiés. Ces faisceaux sont protégés à la périphérie par des paquets de fibres péricycliques réniformes bordés vers l'extérieur par de nombreux cristaux prismatiques. (Une coupe longitudinale faite à ce niveau montre de nombreuses fibres à tubes cristalligènes.)

En dessous de ces fibres, un liber à petites cellules irrégulières et nacrées, puis le cambium sous forme de petites cellules en piles serrées, qui se différencient dans la tige âgée d'une part en liber secondaire, d'autre part en vaisseaux de bois. Le bois primaire rejeté vers l'intérieur est centrifuge. Bordant le bois primaire, nous trouvons un parenchyme interligneux.

La zone péri-médullaire est elle-même lignifiée en grande partie. La moelle est résorbée presque complètement, ce qui donne une tige creuse.

Ce qui caractérise microscopiquement la coupe de tige de *Lathyrus niger* Bernh., c'est l'abondance des tissus de soutien (fibres, vaisseaux de bois, parenchyme lignifié) et en particulier les fibres péricycliques bordées de nombreux cristaux prismatiques.

---

#### LOCALISATION DE L'ARBUTOSIDE

---

Nous avons essayé d'appliquer rigoureusement la technique donnée par M. R. Chemineau [6] (v. p. 37) aux coupes fraîches de *Lathyrus niger* Bernh.

Sous l'action de l'acide nitrique, toutes les parties lignifiées étaient colorées en jaune d'or; mais nous

n'avons pas observé la coloration jaune orangé annoncée par l'auteur dans les cellules des différents parenchymes.

L'acide nitrique hydrolyse l'arbutoside des cellules et le dédouble en glucose et hydroquinol.

Deux heures après, nous avons constaté dans le parenchyme cortical une coloration vert foncé des cellules, due à un composé d'oxydation de l'hydroquinol.

Dans l'endoderme, le liber, les rayons médullaires et la moelle, on ne note aucune coloration.

En effet, l'action de l'acide nitrique à cette concentration est beaucoup trop brutale et détermine une attaque violente des tissus, qui sont fortement endommagés.

Nous avons essayé alors de caractériser l'arbutoside non plus directement, mais à l'aide de son produit de dédoublement : l'hydroquinol.

Ce dédoublement a été provoqué par des agents d'origine chimique et biologique : les acides dilués et les ferments.

#### Dédoublement par les acides.

Les coupes furent traitées par quelques centimètres cubes d'acide sulfurique dilué à 1 %, et soumises à une douce ébullition pendant un quart d'heure. Elles furent lavées avec précaution, puis traitées sur la lame elle-même par une goutte d'aniline.

Après cinq minutes, nous avons vu apparaître une très belle coloration verte dans le parenchyme cortical, dans l'endoderme, dans le liber (surtout au voisi-

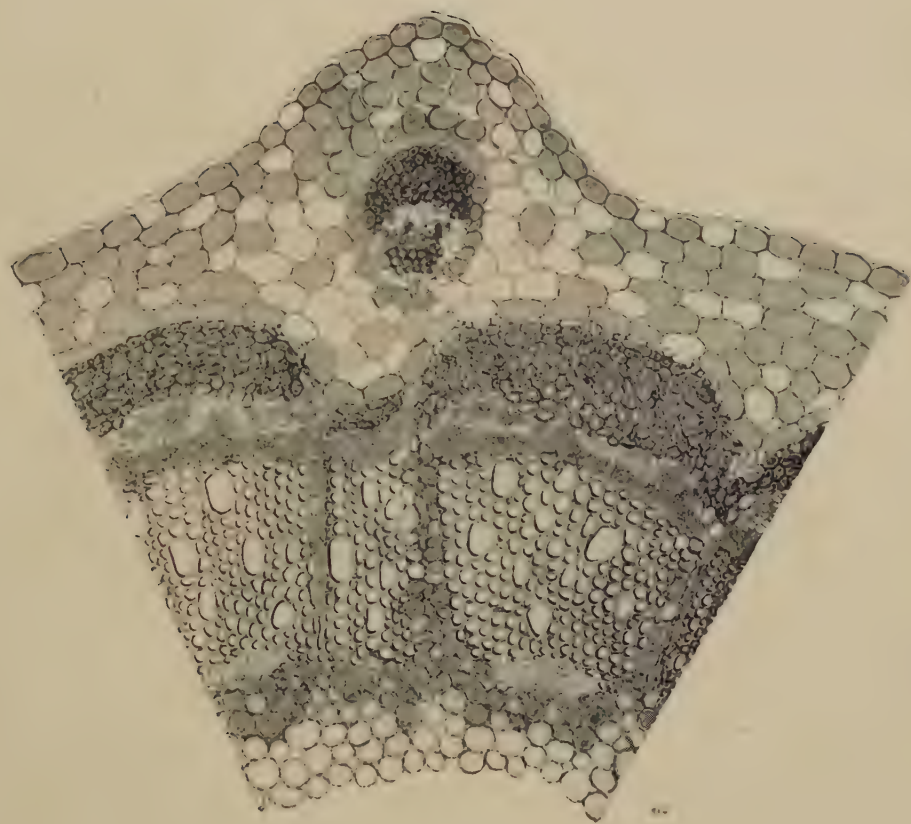


FIG. 3.

**Coupe de tige de « *Lathyrus niger* Bernh »**

montrant les cellules à arbutoside, dans le parenchyme cortical, le collenchyme, l'endoderme, le liber, les rayons médullaires et les cellules de la moelle avoisinant le bois. La localisation est faite à l'aniline. Les cellules à arbutoside ont sur le cliché une teinte grise



nage du bois), dans les rayons médullaires et dans les cellules de la moelle avoisinant le bois (*fig. n° 3*, p. 40).

Le dédoublement par les acides étant préjudiciable aux coupes au cours des différentes manipulations, nous avons songé à employer l'hydrolyse fermentaire, moins brutale.

#### Dédoublement fermentaire.

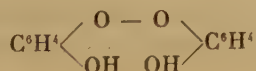
Nous avons d'abord opéré sur les coupes et fait choix d'un complexe fermentaire : l'émulsine. Les coupes de tiges furent immergées dans 3 cc d'eau contenant environ 0,10 d'émulsine et laissées vingt-quatre heures en contact à une température de 30°.

Au bout de ce temps, les coupes furent traitées comme précédemment et la même coloration verte observée apparut.

Cette coloration est due à la quinhydrone formée. En effet, sous l'action de l'émulsine, l'arbutoside donne du glucose et de l'hydroquinol.

Or, la quinhydrone [46] est une combinaison d'hydroquinol et de quinone qui se forme toutes les fois qu'on fait agir sur l'hydroquinol des agents oxydants pour le convertir en quinone, ou des agents réducteurs pour réduire la quinone en hydroquinol. Par la chaleur, la coloration verte disparaît.

La formule de la quinhydrone est :



Nous avons obtenu de meilleurs résultats en opérant non plus directement sur les coupes, mais par osmose des cellules de la tige.

#### Dédoublement par osmose.

Un fragment de tige de *Lathyrus niger* Bernh. long de 3 centimètres fut immergé dans 10 cc d'eau contenant 0,20 gr. d'émulsine et fut laissé ainsi durant quarante-huit heures. Au bout de ce temps, des coupes furent faites dans la partie moyenne du rameau. Ces préparations traitées selon la technique précédente donnèrent des colorations bien meilleures.

En effet, les coupes directement plongées dans l'eau et l'émulsine sont plasmolysées, ce qui entraîne une perte de substance dans les cellules, en particulier dans le tissu criblé.

Par le procédé décrit ci-dessus, la diastase soluble du complexe fermentaire pénètre par osmose dans les cellules à arbutoside. La plasmolyse est plus lente et la partie moyenne du rameau est intacte.

Cette méthode nous a permis ainsi de déceler la présence de l'hétéroside dans le liber.

#### Dédoublement naturel.

Par abandon des coupes de plantes fraîches à l'air libre pendant 24 heures, il se produit à l'intérieur des cellules une hydrolyse due aux réactions fermentaires. Les diastases provoquent le dédoublement de l'arbutoside, et l'hydroquinol se trouve ainsi libéré.

En faisant agir sur ces coupes soit l'aniline, soit l'orthotoluidine, soit la monoéthylamine, l'on obtient également la coloration verte de la quinhydrone.

Sur les coupes laissées à l'air libre durant une période de 15 jours à un mois, en atmosphère saturée d'eau, nous avons constaté comme terme final du doublement fermentaire l'apparition de la mélanogénèse.

Tous les tissus précités : parenchyme cortical, endoderme, liber, rayons médullaires, présentaient alors une coloration allant du brun clair pour le liber, au noir pour le parenchyme cortical, coloration due à l'oxydation de l'hydroquinol.

#### Vérification naturelle.

Nous avons observé ce fait de la façon suivante :

Une coupe faite dans une tige de *Lathyrus niger* Bernh. conservée quatre mois dans une atmosphère de toluène, a montré cette mélanogénèse naturelle au niveau des cellules à arbutoside; nous avons trouvé là une vérification de notre localisation à l'aniline.

Les cellules du parenchyme cortical étaient remplies presque uniformément d'une substance brune.

Cette coloration se développait aussi dans l'endoderme, dans le liber (surtout au voisinage du bois), dans les rayons médullaires et enfin dans les cellules de la moelle avoisinant le bois.

Le produit coloré montrait une densité moins grande au niveau du liber et des rayons médullaires; ce phé-

nomène paraît dû probablement à la grande perméabilité de ces tissus.

La substance brune constitue le dernier terme d'oxydation diastasique de l'hydroquinol.

#### **Autres méthodes de localisation.**

##### *Action du chlore gazeux.*

Nous avons songé à utiliser pour la localisation de l'arbutoside l'action du chlore gazeux qui, *in vitro*, donne avec le glucide un mélange de quinones chlorées. Ces dérivés étant rouges, nous aurions pu faire apparaître ainsi une coloration nouvelle.

Pour cela, nous avons laissé les coupes des plantes fraîches pendant vingt-quatre heures dans une atmosphère de chlore gazeux desséché; nous avons obtenu une oxydation du glucide en quinhydrone verte et non pas une chloruration avec dérivés quinoniques rouges. Nous avons attribué cet échec à l'eau du suc cellulaire donnant de l'acide hypochloreux, empêchant ainsi l'action chlorurante et la transformant en une action oxydante banale.

Nous avons expérimenté l'action d'autres amines, telles l'orthotoluidine et la monoéthylamine. Les résultats furent les mêmes et sans avantage sur l'aniline.

Le perchlorure de fer donne, au bout d'une heure environ, la coloration verte de la quinhydrone. Le bichromate de potassium en milieu légèrement acide ( $\text{SO}^4\text{H}^2$ ) donne également cette réaction. Le terme quinhydrone est toujours le terme final.

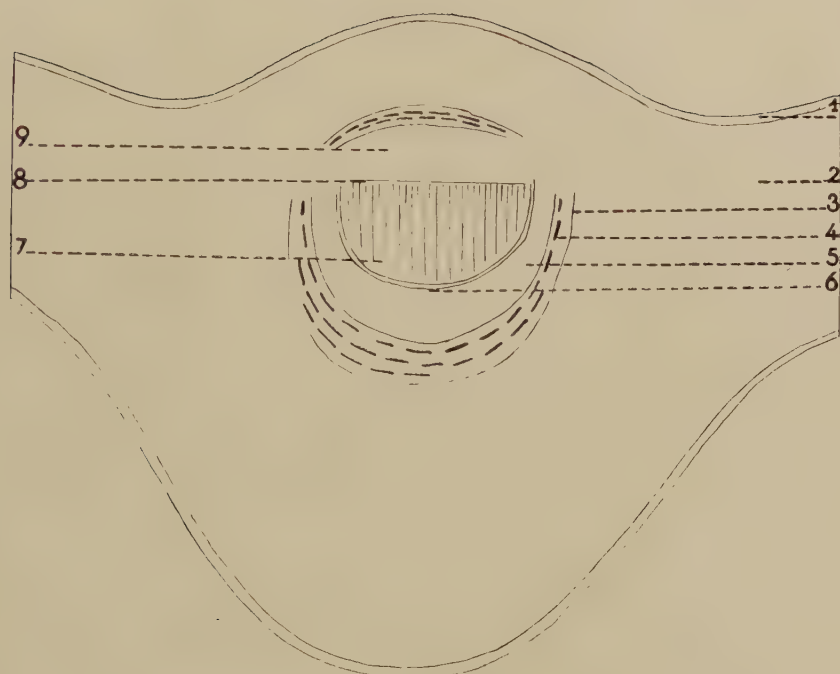


FIG. 4.

Schéma de coupe de feuille de «*Lathyrus niger* Bernh.»

1° Epiderme; 2° Mésophylle homogène; 3° Endoderme;  
 4° Fibres péricycliques; 5° Liber; 6° Cambium; 7° Bois secondaire;  
 8° Bois primaire; 9° Parenchyme interligneux



**LOCALISATION DE L'ARBUTOSIDE  
DANS LA FEUILLE  
DE « LATHYRUS NIGER BERNH. »**

---

Nous avons localisé l'arbutoside dans les feuilles de *Lathyrus niger* Bernh., par le même procédé.

**Morphologie de la feuille.**

Les coupes de feuilles ont été faites à la base, juste au-dessus du pétiole. Ces préparations, traitées selon la méthode classique par l'eau de javel et la fuchsine ammoniacale, ont montré morphologiquement la structure suivante (*fig. n° 4, p. 44*).

Un épiderme supérieur, à cuticule mince, présentant çà et là, à sa surface, quelques poils tecteurs pluricellulaires. Un mésophylle homogène, formé de cellules arrondies, sans méats intercellulaires, ni tissu lacuneux, ni tissu palissadique. A l'intérieur, la nervure principale comprenant l'endoderme entourant un faisceau libéro-ligneux en arc de cercle.

Ce faisceau est protégé par un amas discontinu de fibres péricycliques bordées de cristaux prismatiques.

Le cambium se différencie en vaisseaux de bois secondaire vers l'épiderme supérieur, et en liber vers l'épiderme inférieur.

Le bois primaire centrifuge fait suite au bois secondaire. Les rayons médullaires minces vont rejoindre à travers le bois secondaire et le bois primaire un parenchyme interligneux à petites cellules irrégulières et nacrées qu'il ne faudrait pas confondre avec du liber interne.

### Localisation de l'arbutoside.

Nous avons conduit la technique de localisation dans la feuille, comme nous l'avions fait pour la tige. Nous préparons les coupes de feuilles la veille et les laissons vingt-quatre heures dans un verre de montre, recouvertes d'un autre verre semblable, avec quelques gouttes d'eau distillée afin d'éviter la dessiccation des échantillons. Nous montons les préparations le lendemain dans l'aniline. La localisation se fait très bien au bout de cinq minutes. La coloration verte de la quinquhydrone s'étend bientôt dans tout le mésophylle, l'endoderme, le liber et les rayons médullaires (*fig. n° 5, p. 47*).

Dans le mésophylle, les cellules à arbutoside sont plus nombreuses dans les parties minces de la feuille; au milieu du parenchyme homogène, la localisation est beaucoup plus fragmentaire, pour redevenir plus dense au niveau de l'endoderme. Dans le liber, nous constatons, comme dans la tige, une densité plus grande de l'hétéroside, dans les cellules libériennes avoisinant le bois. Les rayons médullaires y sont bien dessinés par la coloration et vont rejoindre, à travers le bois secondaire, le parenchyme interligneux, où la localisation est la même que dans le liber; les cellules ligneuses à arbutoside qui avoisinent le bois primaire sont plus nombreuses que celles rejoignant les fibres péricycliques.

La localisation se fait donc dans les mêmes tissus que ceux de la tige.

---

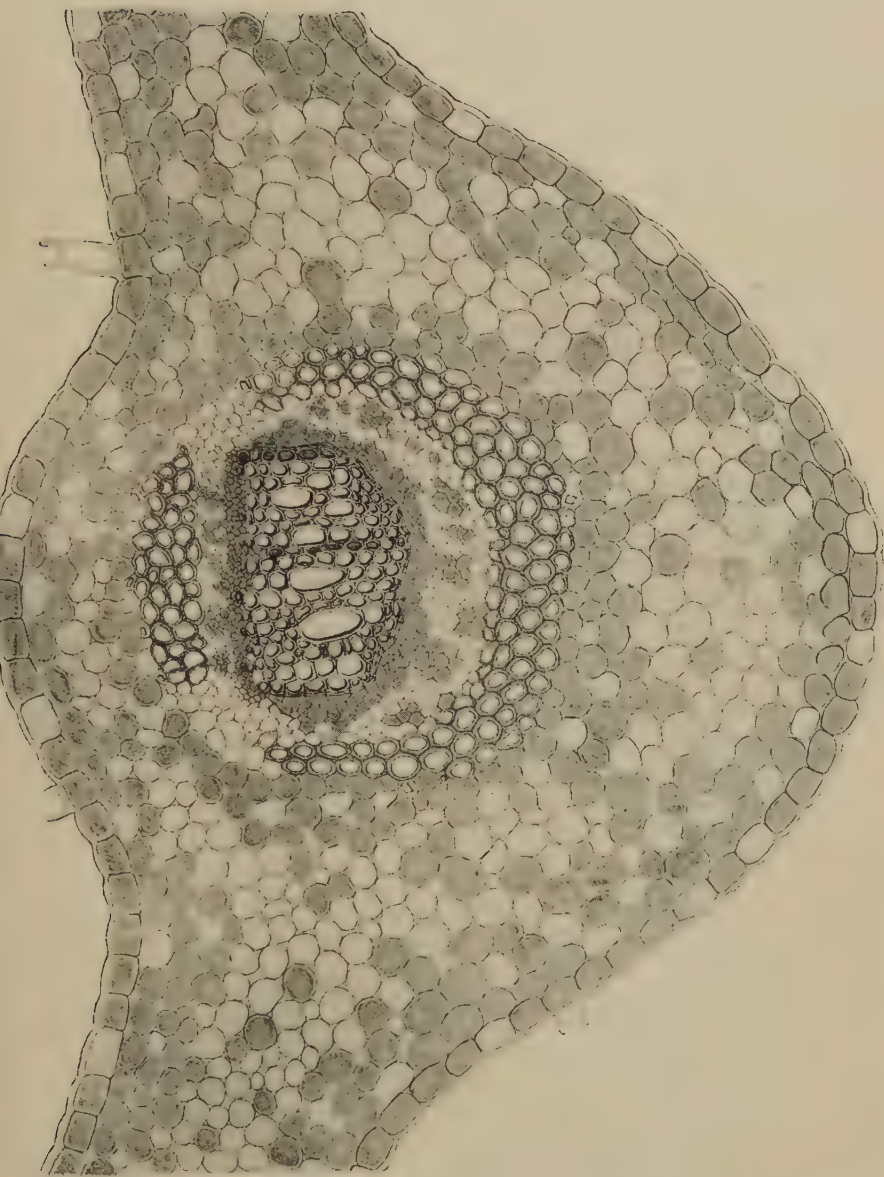


FIG. 5.

Coupe de feuille de « *Lathyrus niger* Bernh. » montrant la localisation de l'arbutoside dans le mésophylle homogène, l'endoderme, les rayons médullaires, le liber au voisinage du bois secondaire, le parenchyme interligneux aux environs du bois primaire. La localisation est faite à l'aniline. Les cellules à arbutoside ont sur le cliché une teinte grise.



**LOCALISATION DE L'ARBUTOSIDE  
DANS LES FRUITS  
DE « LATHYRUS NIGER BERNH. »**

---

Nous avons fait des coupes dans une gousse jeune de *Lathyrus niger* Bernh., et cela au niveau d'une graine. Cette coupe, traitée en vue de la localisation de l'arbutoside, a montré que l'hétéroside se localise dans les deux valves de la gousse, dans tous les tissus non fibreux.

Le tégument de la graine accusait aussi la présence de la quinhidrone.

Les gousses âgées présentent d'ailleurs très nettement, comme il a été dit plus haut, le phénomène de la mélanogénèse, uniquement à leur face externe, la face interne étant constituée par le tissu fibreux nécessaire à la déhiscence du fruit.

---

**LOCALISATION DANS LES GRAINES**

---

Nous avons essayé de faire des coupes dans les graines, mais les téguments présentaient une texture très fibreuse et, d'autre part, les cotylédons étaient très durs et s'écaillaient sans se couper. Aussi avons-nous résolu d'opérer sur la poudre de graine entière.

---

**LOCALISATION DANS LA POUDRE DE GRAINE  
DE « LATHYRUS NIGER BERNH. »**

---

Nous avons pulvérisé quelques graines, récoltées en 1932, au mortier de fer jusqu'à obtention d'une poudre très fine, et nous en avons traité une petite portion par le réactif de Steimetz [37] (*Nota*).

Les débris des téguments nous sont apparus colorés en brun dans certaines de leurs cellules (mélanogène). La poudre des cotylédons était formée de grandes cellules bourrées de gros grains d'amidon à hile allongé et ramifié, colorés en violet.

NOTA. — Réactif pratique pour l'analyse des coupes végétales  
par Emile STEIMETZ [37]

|                                 |       |
|---------------------------------|-------|
| Hydrate de chloral . . . . .    | 45 »  |
| Alun de fer ammoniacal. . . . . | 4 »   |
| Sulfate d'aniline . . . . .     | 1 »   |
| Iode. . . . .                   | 0,40  |
| Rouge soudan III. . . . .       | 0,10  |
| Alcool à 96° . . . . .          | 40 cc |
| Eau distillée . . . . .         | 25 cc |
| Glycérine pure . . . . .        | 30 cc |

*Mode opératoire strict.*

Dissoudre d'une part le choral, l'alun de fer dans 10 cc. d'eau distillée. Dissoudre d'autre part l'iode dans l'alcool, et enfin, le sulfate d'aniline dans 15 cc d'eau distillée (à chaud). Mélanger ces trois solutions froides, puis ajouter la glycérine et enfin le rouge soudan. Mélanger convenablement et laisser en contact pendant vingt-quatre heures, en agitant de temps en temps. Filtrer et conserver dans un flacon brun et bien bouché.

A première vue, l'arbutoside semblait se localiser uniquement dans les téguments.

Mais la microsublimation de poudre de graine décortiquée nous a donné ensuite un sublimat d'hydroquinol. Guidé par cette expérience, nous avons cherché à localiser botaniquement l'arbutoside dans les cotylédons privés de leurs téguments. Nous avons fait alors une série d'essais sur la poudre de graine dépourvue de son enveloppe.

Une première portion, traitée par l'aniline, ne donna aucune coloration. Un autre échantillon, traité par le réactif de Steimetz, montra la coloration violette des tissus de réserve amylacée.

Nous avons ensuite soumis une autre partie de la poudre à l'action de quelques gouttes d'acide chlorhydrique au dixième durant une dizaine de minutes; nous avons traité directement sur la lame l'échantillon ainsi préparé par quelques gouttes d'aniline, ce qui nous a permis de constater, contre les parois intérieures des cellules, une condensation de couleur vert foncé due à la quinhystone. La partie centrale de la cellule était remplie de gros grains d'amidon.

Le même échantillon de poudre, traité par l'acide chlorhydrique et repris non plus par l'aniline, mais par le réactif précité, a fourni des résultats identiques (action du sulfate d'aniline du réactif).

Le perchlorure de fer officinal, qui contient des traces d'acide chlorhydrique, donne directement sur la poudre de cotylédons décortiqués la coloration verte.

L'addition d'acide nitrique au tiers donne cette même condensation fragmentaire dans les cellules.

En résumé, il semble bien que dans la graine, comme dans la tige, les feuilles, etc., il n'y ait pas d'hydroquinol libre. Cet hydroquinol, provenant de l'arbutoside, n'apparaîtra qu'après dédoublement de l'hétéroside par les acides.

L'arbutoside dans les graines se trouve donc localisé : dans les cotylédons, au niveau des membranes des cellules de réserve de la graine et dans les téguments, où le glucide, chez les échantillons âgés, a subi le dédoublement fermentaire entraînant la mélanogénèse.

Nous vérifierons ultérieurement cette localisation botanique par la microsublimation de ces différents tissus.

---

#### LOCALISATION DANS LA FLEUR DE « LATHYRUS NIGER BERNH. »

---

Nous avons vu précédemment que les fleurs de *Lathyrus niger* Bernh., d'abord presque rouges, puis violacées, et bleues, finissent par devenir brunes par dessiccation. Elles n'échappent pas non plus à la loi de la mélanogénèse, qui est générale dans *Lathyrus niger* Bernh., tout au moins pour la partie aérienne de la plante.

La microsublimation nous a permis de déceler la présence abondante de l'arbutoside dans la fleur entière.

---

### TRANSITION DE LA TIGE A LA RACINE

---

Macroscopiquement, la mélanogénèse de la tige semble s'arrêter au niveau de la racine. Une première coupe, faite un peu au-dessus du collet, donne les caractéristiques suivantes :

Mélanogénèse accentuée dans tout le parenchyme cortical;

Dans l'endoderme;

Dans le liber;

Dans les rayons médullaires;

Dans les cellules de la moelle avoisinant le bois.

Dans une coupe faite au niveau du collet, on constate les faits suivants :

Le parenchyme cortical s'exfolie et le suber apparaît. On retrouve encore de l'arbutoside dans les cellules de la périphérie avoisinant l'épiderme;

L'endoderme est nettement marqué et détaché du suber sous forme d'un anneau brun. La cellule, cependant, n'est plus remplie; l'arbutoside semble se coller à l'intérieur des membranes;

Le liber se vide peu à peu;

Les rayons médullaires subissent une transformation et l'on verra bientôt les anciennes cellules à arbutoside se remplir de réserves amylacées sous forme de gros grains d'amidon à hile allongé et ramifié (amidon des Légumineuses) ;

Dans les cellules de la moelle qui sont au voisinage du bois s'opère bientôt la même transformation. L'an-

cienne tige creuse voit son orifice comblé peu à peu par des cellules de réserve.

En résumé, la disparition de l'hétéroside suit le développement de la plante et la néo-formation des tissus de la racine.

Le fait le plus intéressant est de voir dans les rayons médullaires du bois les cellules à arbutoside devenir des cellules de réserve. Serait-ce là une transformation du glucose provenant du dédoublement diastasique de l'hétéroside?

La non-persistance de l'arbutoside de la tige vers la racine semble lier la formation de celui-ci à la fonction chlorophyllienne.

---

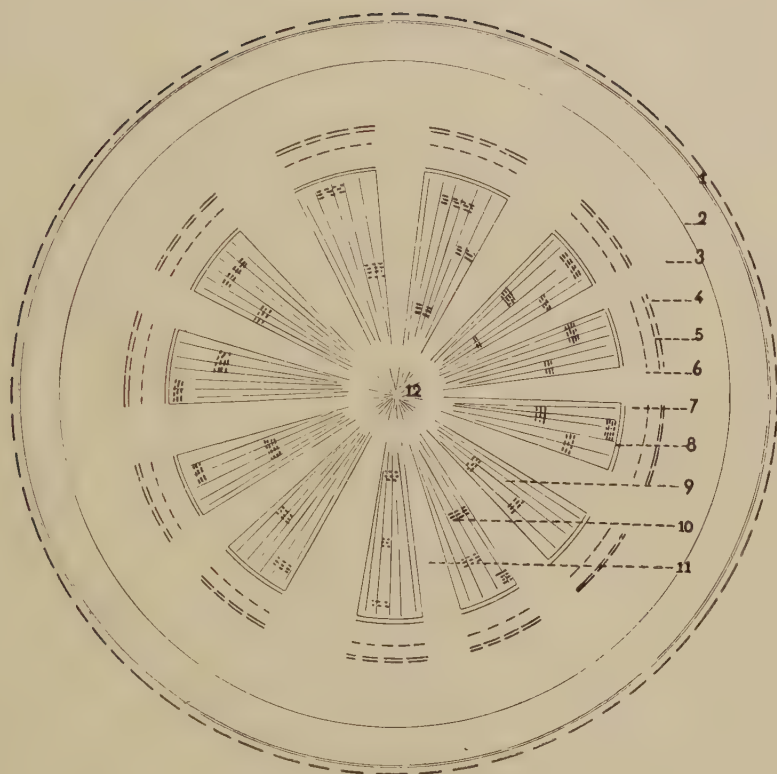


FIG. 6.

**Schéma de coupe de racine de « *Lathyrus niger* Bernh. »**

- 1<sup>o</sup> Suber ; 2<sup>o</sup> Phelloderme à parois épaissies ; 3<sup>o</sup> Parenchyme cortical ; 4<sup>o</sup> Endoderme ;  
 5<sup>o</sup> Fibres péricycliques ; 6<sup>o</sup> Fibres liberiennes ; 7<sup>o</sup> Cellules liberiennes ; 8<sup>o</sup> Cam-  
 bium ; 9<sup>o</sup> Bois secondaire ; 10<sup>o</sup> Fibres ligneuses ; 11<sup>o</sup> Rayons médullaires ;  
 12<sup>o</sup> Bois primaire.



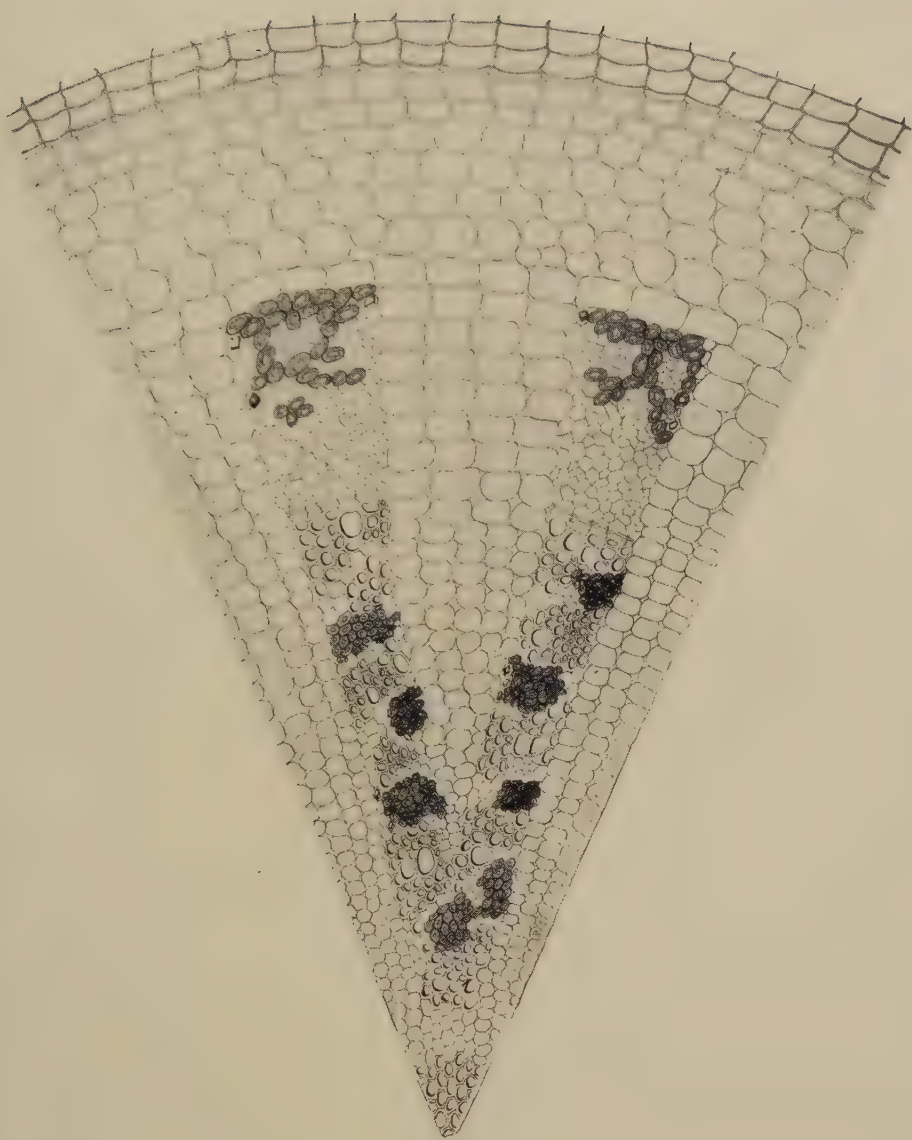


FIG. 7.

**Coupe de racine de « *Lathyrus niger* Bernh. »**

L'on remarquera l'abondance du tissu de soutien (fibres péricycliques, libériennes et ligneuses), ainsi que les cristaux prismatiques au bord des fibres.  
Le tissu de réserve (qui n'est pas figuré sur le cliché) comprend tout le parenchyme cortical et les rayons médullaires.



## CHAPITRE VIII

---

### RECHERCHE DANS LES RACINES

---

Nous avons effectué sur les coupes de racines de *Lathyrus niger* Bernh. les mêmes expériences que sur la tige. Les essais de localisation par l'aniline, le réactif de Steimetz, etc., ont été négatifs. La microsublimation de fragments de racines, sublimation exécutée dans les mêmes conditions que pour les autres parties de la plante, n'a pas révélé le moindre cristal d'hydroquinol. M. A. Meunier, dans l'étude biochimique qu'il a faite de ces racines, n'y a d'ailleurs pas rencontré d'arbutoside.

Des coupes de racines, traitées par le réactif de Steimetz [37] ont montré la structure histologique suivante (*fig. n<sup>os</sup> 6 et 7, p. 52*).

A l'extérieur, un suber qui se développe de plus en plus, selon la grosseur de la racine et le niveau des coupes. Ce suber est coloré en rouge. Immédiatement en dessous, deux assises de phelloderme à parois épaissies. Puis vient un parenchyme cortical assez réduit, formé de grandes cellules polygonales bourrées de gros grains d'amidon à hile allongé et ramifié, colorés en violet; ces cellules constituent un tissu de réserve.

L'endoderme forme un anneau autour du cylindre central.

Le bois coloré en jaune est disposé en nombreux faisceaux très étroits; ces faisceaux sont séparés par des rayons médullaires larges. Au centre, le bois primaire centripète.

L'on rencontre, tout le long des faisceaux de bois, de nombreux paquets de fibres ligneuses peu colorables, bordées de cristaux d'oxalate de chaux. Les fibres sont plus nombreuses que les vaisseaux de bois secondaire proprement dit, ce qui constitue, pour la racine, un tissu de soutien important.

Les rayons médullaires, très développés, sont, comme le parenchyme cortical, remplis d'amidon à gros grains constituant le tissu de réserve.

Le cambium se différencie, dans la racine âgée, d'un côté en vaisseaux de bois et fibres ligneuses, de l'autre en tissu criblé, parenchyme libérien et fibres libériennes lignifiées.

Protégeant le cylindre central, nous voyons des faisceaux de fibres péricycliques, bordés comme les fibres libériennes et les fibres ligneuses de nombreux cristaux prismatiques.

Le bois primaire, comme nous l'avons déjà dit, est au centre de la coupe, à la base des rayons médullaires.

En résumé, on peut noter de nombreuses fibres (péri-cycliques, libériennes et ligneuses) bordées de cristaux prismatiques, beaucoup d'amidon dans le parenchyme cortical et les rayons médullaires.

---

## CHAPITRE IX

---

### RECHERCHE DE L'ARBUTOSIDE PAR MICROSUBLIMATION

---

#### 1<sup>o</sup> Généralités sur la microsublimation.

La microsublimation est une méthode d'analyse microchimique reposant sur ce fait que beaucoup de substances de nature organique et minérale se volatilisent à une température plus ou moins élevée et sont susceptibles de se condenser ensuite sur des objets froids.

Helwig, le premier, en 1864 [14], effectuait cette opération sur une plaquette de verre; il entourait la substance à sublimer de quatre baguettes de verre sur lesquelles s'appuyait une autre plaquette prête à recevoir le microsublimé.

Guy [12c] préparait les microsublimés sur un bain-marie, pour éviter les températures trop élevées.

C'est seulement en 1895 que Behrens [1a], reprenant ce travail, étudia les alcaloïdes par microsublimation avec les porte-objets ordinaires.

Emich [11] recommande de ne chauffer qu'une extrémité du porte-objet et de superposer rapidement,

lors de la sublimation, un porte-objet froid pour provoquer la condensation des vapeurs.

Dès 1901, Nestler [29] caractérisait, par sublimation directe, la vanilline, l'acide benzoïque, la coumarine, les xanthines.

Enfin, en 1911, Tunmann [42] reprit la question en employant la plaquette d'amiante. C'est du reste cette méthode, choisie par la pharmacopée allemande, que nous avons adoptée pour nos recherches sur l'arbutoside.

Tunmann recommande également le changement fréquent des porte-objets qui doivent recevoir le microsublimé; en voici la raison :

La distance entre les deux porte-objets étant très petite, les vapeurs s'échappent en grande partie sur les côtés et n'arrivent pas à se déposer assez vite. Très souvent, on peut trouver dans les microsublimés des débris membraneux emportés par les vapeurs.

Nous avons évité ces inconvénients dans nos recherches, par l'addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué au dixième, nécessaires au dédoublement de l'hétéroside.

Différentes pharmacopées, la Pharmacopée autrichienne, dès 1906 (Sublimation de l'acide arsénieux, du camphre, de la feuille de thé, de la graine de kola, etc.), la Pharmacopée allemande (1926, 6<sup>e</sup> édit., pages xxxviii et xxxix), la Pharmacopée néerlandaise, en 1926 (V<sup>e</sup> édit.), font mention de la microsublimation comme méthode de diagnose des drogues d'origine végétale.

Une revue anglaise, *The extra pharmacopoeia Martindale and Wescott*, vol. I et II, édit 1927 [24], signale un sublimé de cocaïne identifié par formation d'un permanganate de cocaïne.

Les techniques de microsublimation sont très variées. Toutes les divergences résident dans la longueur de la flamme, variant de 1 à 7 centimètres, dans la distance du porte-objet à la flamme, etc.

Nous avons employé personnellement le dispositif décrit ci-dessous [3], préconisé par M. I. Bloch :

Un bec Bunsen ordinaire, à flamme réglable, est recouvert d'une toile métallique amiantée.

Sur cette toile nous plaçons une plaquette en verre supportant la matière à sublimer; au-dessus de cette plaquette, une autre plaquette inclinée à 20° environ, grâce à un support en verre placé d'un seul côté.

Cette seconde plaquette est destinée à recevoir le microsublimé, qui vient se condenser sur sa face interne.

La flamme de gaz, ayant une hauteur de 1 à 2 centimètres, distante de 4 à 5 centimètres de la toile amiantée.

M. Ernest Lefebvre a présenté [20] récemment une communication sur la recherche de la cantharidine par microsublimation.

Il est parvenu ainsi, en toxicologie, à identifier ce produit; il s'est servi, pour cela, d'un procédé de sublimation en vase clos à l'aide d'un dispositif spécial, dont l'originalité consiste surtout dans l'emploi de deux

petites capsules d'aluminium recouvertes d'une lame porte-objet, capsules fermées contenant la substance à microsublimier.

Le dispositif était muni d'un thermomètre servant à mesurer la température de sublimation.

En principe, il est difficile de préparer au début des microsublimés utilisables, et les résultats sont des plus variés. Néanmoins il est possible d'obtenir des cristaux pouvant servir de point de comparaison. Nous verrons plus loin, dans la question qui nous préoccupe (la sublimation de l'arbutoside dédoublé) que ces aspects, sans être constants, sont cependant très caractéristiques du produit sublimé (l'hydroquinol).

De plus, l'apparence des microsublimés, tout en étant capitale, doit être subordonnée à l'obtention de réactions chimiques colorées ou autres, faites directement sur les microsublimés et permettant de conclure en toute certitude.

---

#### NOUVEAU DÉVELOPPEMENT DE LA MÉTHODE DE MICROSUBLIMATION

---

##### 2° Recherche de l'arbutoside dans les plantes.

La méthode de microsublimation est employée depuis longtemps dans l'étude microchimique des plantes. Borodine fut l'un des premiers expérimentateurs qui l'aient utilisée [5].

Ce savant a décelé par sublimation la présence de la leucine dans *Paspalum elegans* et *Dahlia variabilis*.

Un autre procédé, celui de la recherche de la théïne dans les feuilles de thé indiqué par Behrens [2], semble très compliqué (les feuilles de thé sont mélangées avec de la chaux et de l'eau, la masse est desséchée, reprise avec de l'alcool, puis l'extrait alcoolique est sublimé) ; cette complexité n'était pas faite pour faciliter l'adoption de ce procédé dans la pratique. La méthode attira seulement l'attention générale quand Nestler [28] obtint par sublimation *directe* la théïne, la coumarine et la vanilline. Plus tard, le même procédé fut employé dans l'étude de quelques dérivés de l'anthraquinone [27] pour la gentiane et l'*Assa foetida* [40], pour les lichens [35] et pour l'écorce de bouleau [41].

Dans ces travaux, les expérimentateurs cherchaient à obtenir des sublimés cristallins.

Pour ces différents auteurs, la méthode consistait à obtenir le corps lui-même — provenant de fragments de plantes — dans le sublimé, et à l'utiliser pour la diagnose.

Il s'agissait donc d'étudier s'il était possible d'utiliser pour leur identification les produits de décomposition des corps. La condition essentielle est d'obtenir des décompositions faciles et des produits sublimables, l'intérêt de la microchimie résidant en grande partie dans la simplicité de ses méthodes. Nous avons mis au point, pour la Gesse noire, un procédé consistant à utiliser dans la diagnose de l'arbutoside son produit de décomposition sublimable : l'hydroquinol. Voici notre expérimentation :

*Microsublimation in vitro.*

Si l'on soumet l'arbutoside pur à la microsublimation (hauteur de flamme 5 à 10 millimètres; distance de la plaque d'amiante à la base de la flamme 40 millimètres), le corps commence à fondre au bout de 10 minutes environ. Dans le dépôt sublimé se trouvent des gouttelettes qui, par refroidissement, ne présentent aucune cristallisation. Ces gouttelettes ne donnent pas de réactions caractéristiques. L'arbutoside n'est donc pas décelable dans le sublimat.

Si l'on élève la température et qu'on sublime avec une flamme de 20 millimètres de hauteur, la masse fondue, claire comme de l'eau, se transforme peu à peu en produits rouge-brun, et on trouve dans le sublimé, à côté de nombreuses gouttes de couleur brune, des substances en petits grains et parfois aussi des cristaux. Signalons en passant que les cristaux s'identifient par leurs réactions à l'hydroquinol. Les produits bruns — dérivés du goudron — qui se forment en même temps, mettent obstacle à la production d'autres réactions. Ces produits bruns ne se laissent pas éliminer par une resublimation qui, de plus, entraîne de fortes pertes.

3<sup>e</sup> Application au « *Lathyrus niger* ».

*Microsublimation in vivo.*

Si l'on soumet des feuilles de *Lathyrus niger* Bernh. d'une manière analogue, à la sublimation à haute température, il se produit également, çà et là dans le sublimé, des dépôts en petits grains, mais l'apparition

de dérivés du goudron est encore plus marquée dans le traitement des plantes que lorsqu'on opère sur l'arbutoside pur. La sublimation directe ne conduit donc pas à un résultat utilisable pour le diagnostic, l'arbutoside ne se sublimant pas. Les substances en petits grains sublimées à haute température représentent l'hydroquinol; elles sont difficiles à identifier par suite des impuretés; aussi avons-nous essayé d'hydrolyser l'hétéroside pour obtenir des sublimés caractéristiques.

Si l'on met sur quelques cristaux d'arbutoside deux ou trois gouttes de solution d'émulsine, que l'on mélange les substances sur le porte-objet avec une baguette de verre et que l'on sublime d'abord 5 minutes à basse température (vers 50°, hauteur de flamme de 3 à 5 millimètres, écartement de la plaque d'amiante de la flamme 6 centimètres) on obtient, en élevant davantage la température, un sublimé cristallin d'hydroquinol d'un blanc pur. L'hydrolyse peut se faire avec le même succès soit avec de l'acide sulfurique étendu au vingtième, soit avec de l'acide chlorhydrique étendu au dixième.

D'autres expériences ont montré que l'emploi de l'acide sulfurique est à rejeter, car à haute température il carbonise la matière, et les bulles qui se forment atteignent le récipient et altèrent le sublimé. La solution d'émulsine et l'acide chlorhydrique étendu au dixième conviennent mieux pour l'hydrolyse.

En utilisant l'acide chlorhydrique, on n'a pas observé la formation de chlorure d'ammonium et le réactif est plus commun que la solution d'émulsine d'une activité inégale. Il faut veiller, d'autre part, dans

le dédoublement par l'émulsine, à n'opérer qu'à basse température au début de la sublimation. Les sublimés que l'on obtient au cours de la décomposition par l'émulsine montrent les mêmes formes cristallines et les mêmes réactions que dans l'hydrolyse acide. Nous avons donc employé, surtout comme agent hydrolysant, l'acide chlorhydrique étendu au dixième.

D'après ce que nous venons de dire, la mise en évidence de l'arbutoside dans les organes de plantes s'obtient simplement par voie de sublimation directe; voici le mode opératoire :

La plante à examiner est autant que possible pulvérisée. La poudre est disposée sur le porte-objet avec 2 ou 3 gouttes d'acide chlorhydrique étendu (1 p. 10), le tout mélangé au moyen d'une baguette de verre et laissé quelques minutes en repos.

On porte alors le mélange sur une plaque d'amiante en mettant un deuxième porte-objet à 3 millimètres d'écartement pour recueillir le sublimat et on chauffe.

En opérant avec une lampe à alcool dont la flamme atteint 10 millimètres de hauteur et avec 50 millimètres d'écartement entre l'objet et la base de la flamme, on obtient en 5 minutes, pour 0,03 à 0,05 gr. de substance, 3 à 4 sublimés cristallins.

#### 4° Caractérisation du sublimat.

##### a) *Caractérisation des cristaux du sublimat.*

Nous avons caractérisé le microsublimat obtenu en étudiant d'abord la forme des cristaux, et ensuite ses réactions.



FIG. 8.

Types de cristaux d'hydroquinol obtenus par sublimation directe de la poudre de tige feuillée de « *Lathyrus niger* Bernh. », humectée avec de l'acide chlorhydrique dilué au dixième.



Les cristaux obtenus directement après hydrolyse par sublimation des fragments de plantes sont très variables. Ils sont identiques aux cristaux préparés en partant d'hydroquinol pur, par la même opération de sublimation.

L'hydroquinol, contrairement à l'arbutoside, se sublime sans entrer en fusion. On sait que c'est un corps dimorphe. Provenant de solutions, il cristallise en prismes hexagonaux; par sublimation, on l'obtient en petites lames brillantes monocliniques.

Dans notre sublimat, nous trouvons des prismes courts, qui souvent se réunissent en longs cristaux recourbés, et des prismes minces prenant parfois une disposition semi-circulaire. Sur de gros prismes se déposent des lamelles monocliniques brillantes, dont un grand nombre se rencontrent aussi isolément dans le sublimé. Plus rarement, on observe des squelettes de cristaux en forme d'X. Souvent, il se forme des agglomérats de petits cristaux ressemblant à des feuilles, desquelles sortent par endroits de longs prismes donnant à l'ensemble l'aspect d'un sapin. Ces prismes sont çà et là disposés parallèlement, en palissade. De petits cristaux en forme de feuilles s'assemblent en bouquets et en arborescences.

Les expériences comparatives faites avec l'hydroquinol pur ont montré que les différentes formes cristallines sont surtout conditionnées par l'élévation de la température. Quand celle-ci est trop élevée, il apparaît dans le sublimé des gouttelettes, dans lesquelles l'hydroquinol se sépare en formes arborisées qui paraissent presque noires. Les cristaux se trouvent en

général au bord du champ de sublimation; parfois ils se séparent des gouttelettes de sublimation. En soufflant fortement sur la préparation, les cristaux disparaissent momentanément et peuvent se regrouper ensuite sous d'autres formes.

La dimension de ces cristaux varie énormément. Les prismes peuvent atteindre  $150\ \mu$  de longueur (généralement  $30$  à  $60\ \mu$ ), les lamelles ou petites feuilles ont une longueur de  $50\ \mu$  à  $20\ \mu$  en moyenne (fig. 8, p. 63).

b) *Identification du microsublimat  
par voie chimique.*

Les cristaux sublimés sont facilement solubles dans l'eau, l'alcool, l'éther, l'aniline, l'acétone, l'ammoniaque et le sesquichlorure de fer, insolubles dans le benzène. De la solution dans l'aniline se séparent, au bout de quelques heures, des prismes mesurant jusqu'à  $50\ \mu$  de longueur. En opérant sur la solution acétonique, il se forme des prismes beaucoup plus courts, en partie faiblement arqués, qui se réunissent en petits groupes. Le sesquichlorure de fer étendu dissout ces cristaux, qui deviennent momentanément noirs. La solution prend une couleur verdâtre, mais celle-ci n'est pas très apparente; on la distingue plus facilement en tenant le porte-objet au-dessus d'un fond blanc, ou mieux encore en examinant au microscope le bord de la goutte de liquide.

La réaction à l'ammoniaque est caractéristique au point de vue microchimique. Il suffit de déposer sur les cristaux une petite goutte d'ammoniaque; il apparaît parfois immédiatement ou après une minute de

contact une coloration brune, bien visible au microscope. Pour des traces très faibles, le bord de la goutte de solution, observé au microscope, montre une coloration rouge-brun. Si on laisse la goutte s'évaporer (il ne faut pas agiter la solution ammoniacale), il se sépare de la solution rouge-brun des cristaux tout à fait caractéristiques. Les petits sont surtout des prismes incolores; les gros sont jaunâtres, et presque rouge-brun au bord de la goutte d'évaporation. Ces derniers se décolorent au bout de peu de temps et ressortent très nettement sur le fond coloré en rouge-brun. En dernier lieu se forment de longs prismes incolores, ainsi que çà et là des cristaux en forme d'X.

On peut traiter également le microsublimé obtenu sur la lamelle elle-même par une goutte de solution aqueuse de quinone; on laisse la préparation se dessécher. On observe alors au microscope la transformation des cristaux en tablettes ou plaques brun-vert de quinhydrone.

Avec les cristaux sublimés humectés par une goutte du réactif à la paranitrosodiméthylaniline (signalé par M. Grossglauser [48]) on remarque après dessiccation la formation de rosettes cristallines jaunâtres aux extrémités élargies souvent semblables à des feuilles.

Le microsublimat, traité par une goutte de réactif sulfurique formolé à deux pour cent, donne par agitation une coloration jaune-brun, puis feuille morte (Denigès [10]).

L'hydroquinol chimiquement pur fournit les mêmes cristaux et les mêmes réactions.

5° Recherche de l'arbutoside par microsublimation  
chez diverses plantes.

A l'aide de la microsublimation, après hydrolyse préalable, Tunmann [42] a étudié l'*Arctostaphylos Uva Ursi*. Parmi les végétaux renfermant de l'arbutoside, la feuille de Busserolle présente pour nous comme plante officinale, un intérêt particulier. La sublimation réussit avec chaque feuille. Même les plus petites de 1 centimètre de long, du poids de 0,02 gr. suffisent pour obtenir 3 à 4 sublimés cristallins d'hydroquinol. La réaction peut donc être envisagée au point de vue pratique.

Les feuilles de Raisin d'Ours, dont la consistance rappelle celle du cuir, sont difficiles à pulvériser. On peut se passer de cette pulvérisation compliquée en découpant la feuille en menus fragments, à partir de l'extrémité, à l'aide de petits ciseaux.

Ces petits brins sont humectés par 2 ou 3 gouttes d'acide chlorhydrique étendu et soumis à la sublimation. Les pétioles des feuilles, de même que les fragments de tiges, renferment de l'arbutoside en abondance.

Lors de notre expérimentation sur la Gesse noire, un échantillon de feuilles de *Lathyrus niger* Bernh., avec lequel nous avons fait des expériences il y a dix mois, était resté conservé dans un flacon de verre en présence de toluène; ces feuilles avaient pris une teinte jaune-brun. Lorsqu'elles furent sublimées directement, sans hydrolyse préalable, elles donnèrent déjà, à basse température, plusieurs beaux sublimés d'hydroquinol.

Ce résultat ne fut pas obtenu avec un échantillon frais de teinte vert foncé. L'arbutoside de l'échantillon longtemps conservé s'était certainement hydrolysé sous l'action des ferments de la plante.

D'autre part, nous avons pu constater que tout l'arbutoside n'était pas dédoublé. En effet, en ajoutant au résidu mis en liberté par la sublimation de l'hydroquinol, une goutte d'acide chlorhydrique et en renouvelant l'expérience, il s'est formé de nouveaux sublimés du diphénol.

La microsublimation avait été faite précédemment par Tunmann [42] sur *Vaccinium Myrtillus* L. L'examen portait sur des feuilles sèches conservées depuis une ou deux années.

Les feuilles parfaitement sèches pouvaient facilement se pulvériser entre les doigts. Même de petites feuilles de 1,5 cm., du poids de 0,02 gr., donnèrent, après hydrolyse préalable, 3 à 4 sublimés cristallins d'hydroquinol. Dans le sublimé prédominaient des prismes courts, lesquels, après soufflage, se changeaient en folioles se groupant elles-mêmes en bouquets et en arborescences.

Dans ses essais sur *Kalmia angustifolia* L., plante du jardin botanique de Berne, les feuilles, examinées fraîches et à moitié sèches, ont été découpées en petits brins parce que difficiles à pulvériser. Des brins de 10 mmq ont fourni plusieurs sublimés. Parmi les formes cristallines, les prismes furent prédominants.

Sur *Pyrola rotundifolia* L. (plante d'herbier), opérant sur des découpures, Tunmann obtint déjà des su-

blimés avec les plus petites feuilles, ainsi qu'avec les pétioles. Sur le bord du champ de sublimation se formaient principalement des prismes; au centre se trouvaient des formations ressemblant à des feuilles de sapin.

---

## CONCLUSION

---

De l'étude précédente, nous pouvons conclure que la présence de l'hydroquinol entraîne celle de l'arbutoside.

Il est vrai que les auteurs dans *Vaccinium Vitis-Idæa* L., ont indiqué de l'hydroquinol libre. On sait que cette plante renferme en même temps de l'arbutoside. Il est possible que l'hydroquinol libre du *Vaccinium Vitis-Idæa* ne soit également qu'un produit de décomposition de l'arbutoside. (*Nota.*)

Les feuilles de *Lathyrus niger* semblent contenir de l'hydroquinol libre en très petite quantité.

En effet, la microsublimation d'échantillons frais de feuilles révèle quelques cristaux de cette substance. La microsublimation, dans ce cas, est faite sans addition préalable d'acide chlorhydrique au dixième; elle porte uniquement sur l'échantillon frais, découpé en lambeaux et mis sur le porte-objet.

---

*Nota.* — MM. G. RIVIÈRE et G. BAILHACHE [30a], en 1904 ont isolé cependant de l'hydroquinol en nature des bourgeons de poirier (*Pirus communis*); il est à remarquer toutefois que la plante renferme de l'arbutoside.

Peut-être cet hydroquinol vient-il du dédoublement de l'arbutoside dû aux acides oxaliques ou autres qui pourraient y être renfermés, ou de l'action fermentaire.

Nous avons montré qu'il est facile de combiner l'hydrolyse avec la microsublimation dans l'analyse microscopique des plantes.

Les acides (acide oxalique, etc.) existant généralement dans les tissus à côté des substances sublimables exercent peut-être une influence sur la sublimation.

6° Application à la localisation de l'arbutoside  
dans les graines, les fruits et les fleurs  
de « *Lathyrus niger* Bernh. ».

La microsublimation des téguments de quelques graines de *Lathyrus niger* nous a donné de magnifiques cristaux d'hydroquinol. La grande quantité des cristaux obtenus indique nettement la densité de ce di-phénol dans cette partie de la graine.

Ayant renouvelé l'expérience de microsublimation sur la graine privée de ses téguments, nous avons obtenu également ces mêmes cristaux, mais en nombre beaucoup moins grand.

L'opération fut faite sur deux échantillons de poudre de cotylédons décortiqués : le premier, microsublimé avec une goutte d'eau distillée, ne donna aucun cristal; le second, après addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique au dixième, donna de magnifiques cristaux d'hydroquinol.

Nous pouvons en conclure que l'apparition de l'hydroquinol a été provoquée par l'action de l'acide

chlorhydrique et qu'il n'existait pas à l'état libre dans ces graines.

Les différents microsublimats furent caractérisés par voie chimique, comme nous l'avons exposé précédemment.

L'arbutoside existe donc dans les téguments et dans les cotylédons (mais surtout dans les téguments).

Des fragments de gousses, des pétales de fleurs, soumis séparément aux mêmes opérations d'hydrolyse et de microsublimation, ont fourni de très beaux cristaux d'hydroquinol qui ont été parfaitement identifiés. La microsublimation sans dédoublement préalable a été négative. Ici, comme précédemment, nous ne trouvons pas d'hydroquinol libre, ce qui nous permet d'affirmer en toute certitude que la présence de l'hydroquinol entraîne celle de l'arbutoside.

---

## CONCLUSIONS

---

Arrivé au terme de nos recherches, nous ne ferons que résumer dans ce dernier paragraphe les conclusions partielles données à l'occasion des divers chapitres qui précèdent.

Notre étude se rapporte au *Lathyrus niger* Bernh., qui contient un principe hétérosidique : l'arbutoside (arbutine) [26]. Nous n'avons pu déceler cet hétéroside directement, mais seulement après hydrolyse par les ferments ou les acides. La localisation se fait très bien à froid, après dédoublement *in vivo* du glucide par l'acide chlorhydrique au dixième ou par l'émulsine.

Traitées alors par l'aniline, l'orthotoluidine ou la monoéthylamine, les coupes de *Lathyrus niger* Bernh. présentent une coloration verte dans toutes les cellules à arbutoside; cette coloration est due à la quinhydrone.

En fait, c'est l'hydroquinol, produit de dédoublement de l'arbutoside, qui est caractérisé et qui donne cette réaction. De la présence de l'hydroquinol nous déduisons celle de l'arbutoside, car nous n'avons pas rencontré d'hydroquinol libre dans la plante verte.

L'arbutoside se rencontre dans la tige feuillée, dans les fleurs, les fruits et les graines.

Dans la tige, les cellules à arbutoside sont localisées au niveau du parenchyme cortical, du collenchyme, de l'endoderme, du liber au voisinage du bois, des rayons médullaires et des cellules de la zone périmédullaire avoisinant le bois.

Dans la feuille, nous rencontrons ce principe hétérosidique dans tout le mésophylle homogène, l'endoderme, le parenchyme interligneux, les rayons médullaires, et dans le liber surtout au voisinage du bois.

Dans les graines, nous trouvons l'arbutoside dans toute la partie non fibreuse des téguments.

L'hétéroside n'existe pas dans les racines; les essais de localisation botanique ont été négatifs. La formation de ce principe semble donc liée à la fonction chlorophyllienne.

L'étude de la transition tige-racine a montré qu'aux cellules à arbutoside se substituaient des cellules de réserve amylacées.

On constate au niveau des cellules à arbutoside de la tige feuillée, des fleurs et des téguments des graines, le phénomène de la mélanogénèse.

L'arbutoside a été caractérisé également par microsublimation des différentes parties de la plante, sauf dans les racines où il ne nous a pas été possible de le déceler (résultats confirmant les recherches de A. Meunier [26]).

Ce procédé chimique nous a permis de déceler l'arbutoside dans les cotylédons des graines et s'est révélé pour nous une méthode précieuse dans la recherche directe de l'arbutoside dans la Gesse noire en particulier; elle peut s'appliquer à toutes les plantes en général.

---

VU ET APPROUVÉ :

Nancy, le 9 avril 1935.

*Pr Le Doyen*  
*de la Faculté de Pharmacie,*  
Le Professeur délégué :  
R. DOURIS.

VU :

Nancy, le 8 avril 1935.  
*Le Président de Thèse,*  
P. GILLOT.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Nancy, le 10 avril 1935.

*Pr le Recteur de l'Académie,*  
Le Vice-Président du Conseil de l'Université,  
L. SPILLMANN.



## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

---

1. — BASS (R.). — Ueber das Verhalten von Glucosiden, insbesondere des Arbutins im Organismus. *Chem. Zentr.* 1912, t. **1**, p. 741.
- 1 a. — BEHRENS (H.). — *Anleitung zur Mikr. Analyse der wichtigsten organischen Verbindungen.* Hamburg u. Leipzig, 1895-1900.
2. — BEHRENS. — *Anleitung zur Mikr. Analyse der bedeutendsten organ. Verbind.* Introduction à l'analyse microchimique des composés organiques les plus importants. Leipzig, 1899.
- 2 a. — BERTRAND (G.). — Propositions relatives à la nomenclature des glucides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, **9**, 854.
3. — BLOCH (I.). — La microsublimation dans ses rapports avec la détermination des drogues d'origine végétale. Thèse de doctorat en pharmacie, Nancy 1928.
4. — BONNIER (Gaston) et LECLERC DU SABLON (1921). — *Cours de Botanique.* Phanérogames. Paris, Librairie Générale de l'Enseignement.
5. — BORODINE. — Sur les sphérocristaux de *Paspalum elegans* et sur la recherche microchimique de la leucine. Travaux de la Société d'Histoire naturelle de Saint-Petersbourg, **12**, p. 147.
- 5 a. — BRIDEL (M.). — Réforme de la nomenclature de chimie biologique. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1925, (8), **1**, 411.
6. — CHEMINEAU (R.). — Recherches microchimiques sur quelques glucosides. Thèse de doctorat en pharmacie, Paris, 1904.

7. — CLAASSEN (E.). — On Arbutin, the bitter principle of the Cowberry. Sur l'arbutine, principe amer de l'Airelle Myrtille. *Amer. Journ. of Pharm.*, 1885, **57**, p. 321.
8. — CURTIS (J.) et HUGUES. — On uva ursi or bear-berry. Sur l'*Uva-Ursi*. Thèse de doctorat. *Amer. Journ. of Pharm.*, 1847, **19**, p. 88.
9. — DE CUGNAC (A.). — Recherches sur les glucides des graminées. Thèse doct. ès sciences naturelles, Paris, 1930.
10. — DENIGES. — *Précis de chimie analytique*. Maloine, Paris, 1931.
11. — EMICH (F.). — *Lehrbuch der Mikrochemie*. Wiesbaden, 1911.
- 11 a. — FISCHER (E.), PILOTY. — Reduction der Zuckersäure. *Berl. Deutsch. Chem. Ges.*, 1891, t. **24**, C. 92, p. 521-523.
12. — FLINT (J.-H.). — *Arctostaphylos Glauca* Lindley. Manzanita. *Amer. Journ. of Pharm.*, 1873, **45**, p. 197.
- 12 a. — GAGER (R.) et ZECHNER (L.). — *Pharm. Monatschr.*, 1934, t. **15**, n° 4, p. 93-95, April.
- 12 b. — GRIMME (C.). — *Pharm. Zentralhalle*, 1933, t. **74**, n° 44, p. 669-670, 2 nov.
- 12 c. — GUY (W.-A.). — On the melting and subliming temperatures of the principal poisons organic and anorganic, 1867. *Pharm. Journ. and Trans.*, 2. ser., **9**, p. 370.
13. — HABERMANN (J.). — Ueber das Arbutin. Sur l'arbutine. *Monatsheft. f. Chemie*, 1883, **4**, p. 753.
14. — HELWIG (A.). — Die Sublimation der Alkaloïde und mikroskopische Verwertung für die differenzielle Diagnose derselben. *Zeitschrift für analytische Chemie*, 1864, t. **3**, p. 43. Mainz.
15. — IVANOFF. — Ueber Arbutin und Methylarbutin. *Biochem. Zeitschr.* t. **32**, p. 74-96; 4. 1911.
16. — JOSEPHSON. — Dégradation enzymatique des glucosides. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1925, t. **147**, p. 1154.
17. — KARIYONE et KIMURA. — Teneur en arbutine des feuilles de pêcher. *J. Pharmac. Soc. Japan*, 1923, n° 494, p. 247-251, d'après *Chem. Abstracts*, 1923, t. **17**, p. 3358.

18. — KAWALIER (A.). — Ueber die Blaetter von *Arctostaphylos Uva-Ursi*. Analyse des feuilles de l'*Arctostaphylos Uva-Ursi*. *Ann. d. Chem. u. Pharm.* 1852, **84**, p. 356.
- 18 a. — KENNEDY (G.-W.). — Arbutin in *Kalmia latifolia* L. *Amer. Journ. of Pharm.*, 1875, **47**, p. 5.
19. — KUEHNEL (G.-F.). — *Rhododendron maximum* L. *Amer. Journ. of Pharm.*, 1885, **57**, p. 164.
- 19 a. — LAURENTZ (H.). — Hydrochinon and Arbutin. *Amer. Journ. of Ph.*, 1886, **58**, p. 385.
- 19 b. — LEBEAU (P.) et COURTOIS (G.). — *Traité de Pharmacie chimique*. Masson, 1929.
20. — LEFEBVRE (Ernest). — Recherche de la cantharidine par microsublimation. Communication au *Journal de la Pharmacie de Belgique*, 30 juillet 1933, p. 18-20.
21. — LEUBUSCHER. — Verwendung von Arbutin. Emploi de l'arbutine. (*Wien. Med. Presse*, 1885/1, d'après *Arch. d. Pharm.*, p. 678, 1885.)
22. — MACBETH (A.) et MACKAY (J.). — Sur la constitution du glucose existant dans l'arbutinè. Studies of the glucosides. Recherches sur les glucosidès, arbutine, 3-1923, *Chem. Soc.*, t. **123**, p. 717-724.
23. — MANNICH (C.). — Sur l'arbutine et sa synthèse, *Arch. d. Pharm.*, 1912, t. **250**, p. 545-560.
24. — MARTINDALE et WESCOTT. — *The Extra Pharmacopœia* (Revue anglaise), vol. I et II, 1927.
25. — MEUNIER (André). — Recherches sur les variations de la coloration des plantes au cours de leur dessiccation. Le chromogène de l'*Orobis niger* L. est l'arbutoside (arbutine). 1930, C. R. Ac. Sc., t. **191**, p. 1471. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, 13, 72.
26. — MEUNIER (André). — Contribution à l'étude des glucides dans quelques espèces indigènes du genre *Lathyrus* (Papilionacées), 1933, n° 50, Thèse de doctorat ès sciences naturelles, Nancy, p. 203 à 207.
- 26 a. — MEUNIER (A.). — La réforme de la Nomenclature en Chim. biologique. *Bull. Etud. en Pharm.*, Nancy, 1933, n° 44, 2.

- 26 b. — MICHAEL (A.). — Ueber die Synthese des Methylarbutins. *Berichte von Berlin*, 1881, t. **14**, 2, p. 2099.
27. — MITLACHER (W.). — Mikrochemie einiger Emodindrogen. *Microchimie de quelques drogues à émodine. Pharmazeut. Praxis*, 1906, fasc. 11, p. 623.
28. — NESTLER (A.). — Un procédé simple pour la recherche de la théine et son application pratique, dans la revue *Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs-und Genussmittel*, 1901, N, p. 289; et : La recherche directe de la coumartine et de la théine par sublimation. *Berichte der deutsch. botan. Ges.*, 1901, **19**, p. 350.
29. — NESTLER (A.). — *Ber. der deutsch., Bot. Ges. Bd.* **27**, p. 63, Berlin, 1909.
30. — OXLEY (J.). — On some constituents of Ericaceous plants. Sur quelques composants des Ericacées. 1872, *Amer. Journ. of Pharm.* **44**, p. 250-253.
- 30 a. — RIVIÈRE et BAILHACHE. — De la présence de l'hydroquinone dans le poirier. *C. R. Ac. Sc.*, 1904, **139**, 81.
31. — SCHIFF (H.). — Zur Constitution des Arbutins. Contribution à l'étude de la constitution de l'arbutine. *Ann. d. Chem. u. Pharm.* 1870, **154**, p. 236-247.
32. — SCHIFF (H.). — Zur Constitution des Arbutins. Contribution à l'étude de la constitution de l'arbutine. *Ann. d. Chem. u. Pharm.*, 1881, **206**, p. 159.
33. — SCHIFF (H.) et PELLIZZARI (G.). — Ueber Methylarbutin, Benzylarbutin u. Benzyldioxybenzol. Sur la méthylarbutine, la benzylarbutine et les benzyldioxybenzols. *Ann. d. Chem. u. Pharm.*, 1883, **221**, p. 365.
34. — SCHUNCK et MARCHLEWSKI. — Studien ueber einige Zuckerarten V. Arbutinzucker. Le sucre de l'arbutine. *Ann. Chem. u. Pharm.*, 1893, **94**, 278, p. 354.
35. — SENFT (E.). — Ueber Physcion in Flechten und s. mikrochem. Untersuchung. Sur la présence de « physcione » dans les lichens et sur sa recherche microchimique. *Wiesner Festschrift*, 1911, p. 176.
36. — SMITH (E.-N.). — Examination of Ericaceous Plants. *Amer. Journ. of Pharm.* 1881, **53**, p. 549.

37. — STEIMETZ (Emile). — Réactif pratique pour l'analyse des coupes végétales. *Bulletin de la Société Chimique de France*, t. **81**, 1934.
  38. — STRECKER (A.). — Ueber das Arbutin und seine Verwandlungen. Sur l'arbutine et ses transformations. *Ann. d. Chem. u. Pharm.* 1858. **107**, p. 228-234.
  39. — STRECKER (A.). — Ueber einige Verwandlungen des Arbutins. Sur quelques transformations de l'arbutine. *Ann. d. Chem. u. Pharm.* 1861, **118**, p. 292.
  40. — TUNMANN (O.). — Mikrochem. Untersuchung d. Enzians. Recherche microchimique de la gentiane. Handelsb. von Gehe C<sup>e</sup>, Dresden, 1911, p. 155.
  41. — TUNMANN (O.). — Mikrochem. d. Betulakampfers. Microchimie du camphre de bouleau. *Apoth. Zeit.*, 1911, p. 344.
  42. — TUNMANN (O.). — Beiträge zur Microchemie einiger Wurzelndrogen, 1911. *Berichte der deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft*, vol. **21**, p. 312-319.
  43. — VAN RIJN. — *Die Glykoside* (Berlin, 1900, p. 342). Arbutin (Hydrochinon, Glykosid C<sup>12</sup>H<sup>16</sup>O<sup>7</sup>).
  44. — VULPUS (G.). — Ueber Arbutin. Sur l'arbutine. *Archiv. d. Pharm.*, **23**, 1885, p. 432.
  45. — WILLSTAETTER, OPPENHEIMER. — Wirkung von Emulsin. Action de l'émulsine. *Zeitschr. für physiol. Ch.*, 1922, t. **121**, p. 183-194.
  46. — WURTZ. — *Dictionnaire de chimie pure et appliquée*, 1876, t. **2**, 2<sup>e</sup> partie, p. 1283, Paris, Hachette.
  47. — ZWENGER (C.) et HIMMELMANN (C.). — Ueber China-säure, Ericinon und Arbutin. Sur l'acide quinique, l'éricinone et l'arbutine. *Ann. d. Ch. u. Pharm.*, **129**, 1864, p. 203.
  48. — *Pharmaceutica Acta Helvetica*, 1926, p. 78 et 79.
-



## TABLE DES MATIÈRES

---

|                                                                                                   | Pages |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| AVANT-PROPOS . . . . .                                                                            | 1     |
| CHAPITRE I. — <i>Description du Lathyrus niger Bernh. Morphologie externe. Habitat.</i> . . . . . | 5     |
| CHAPITRE II. — <i>Présence de l'arbutoside dans le Lathyrus niger Bernh.</i> . . . . .            | 9     |
| Etude historique de l'arbutoside. . . . .                                                         | 9     |
| CHAPITRE III. — <i>Propriétés thérapeutiques de l'arbutoside. Toxicologie</i> . . . . .           | 17    |
| CHAPITRE IV. — <i>Extraction de l'arbutoside de Lathyrus niger Bernh</i> . . . . .                | 27    |
| CHAPITRE V. — <i>Identification directe de l'arbutoside à partir de la drogue.</i> . . . . .      | 29    |
| Dosage . . . . .                                                                                  | 30    |
| CHAPITRE VI. — <i>Réactions de l'arbutoside in vitro</i> . . . . .                                | 33    |
| CHAPITRE VII. — <i>Localisation de l'arbutoside dans le Lathyrus niger Bernh</i> . . . . .        | 37    |
| a) Tige. . . . .                                                                                  | 38    |
| b) Feuilles, fruits, graines, fleurs . . . . .                                                    | 45    |
| c) Transition de la tige vers la racine . . . . .                                                 | 51    |
| CHAPITRE VIII. — <i>Recherche dans les racines</i> . . . . .                                      | 53    |

|                                                                                                                                     | Pages |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| CHAPITRE IX. — Recherche de l'arbutoside par microsublimation . . . . .                                                             | 55    |
| 1° Généralités sur la microsublimation : Description, appareillage, technique. . . . .                                              | 55    |
| 2° Recherche de l'arbutoside dans les plantes. Microsublimation <i>in vitro</i> . . . . .                                           | 58    |
| 3° Application au <i>Lathyrus niger</i> : Microsublimation <i>in vivo</i> . . . . .                                                 | 60    |
| 4° Caractérisation du sublimat . . . . .                                                                                            | 62    |
| a) Caractérisation des cristaux. . . . .                                                                                            | 62    |
| b) Identification du microsublimat par voie chimique. . . . .                                                                       | 64    |
| 5° Recherche de l'arbutoside par microsublimation dans diverses plantes. . . . .                                                    | 66    |
| Conclusion. . . . .                                                                                                                 | 68    |
| 6° Application à la localisation de l'arbutoside dans les fleurs, les fruits et les graines du <i>Lathyrus niger</i> Bernh. . . . . | 69    |
| CONCLUSIONS. . . . .                                                                                                                | 71    |
| INDEX BIBLIOGRAPHIQUE . . . . .                                                                                                     | 75    |

---

---

IMP. LORRAINE, RIGOT & C<sup>ie</sup> - NANCY

---





